Postverlagsort Berlin

ZEITSCHRIFT
FÜR
VERGLEICHENDE PHYSIOLOGIE

BEGRÜNDET VON

K. v. FRISCH UND A. KÜHN

HERAUSGEGEBEN VON

K. v. FRISCH
MÜNCHEN

E. v. HOLST
SEEWIESEN/OBB.

H. H. WEBER
HEIDELBERG

43. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT

MIT 57 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 11. NOVEMBER 1960)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1960

Z. vergl. Physiol.

Preis DM 35,80

Zeitschrift für vergleichende Physiologie

Begründet 1924 von K. von Frisch und A. Kühn. Band 1—29 (1934) unter dem Titel: „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abt. C: Zeitschrift für vergleichende Physiologie. Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für vergleichende Physiologie"** steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos, in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Die Arbeiten können in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßt sein.

Manuskripte nehmen entgegen:

Professor Dr. K. von Frisch, München 9, Über der Klause 10,

Professor Dr. E. von Holst, Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen/Obb. über Starnberg,

Professor Dr. H. H. Weber, Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für Med. Forschung, Heidelberg, Jahnstraße 29.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901

Berlin-Wilmersdorf
Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

43. Band — Inhaltsverzeichnis — 6. (Schluß-)Heft

Seite

WEEL, VAN P. B., On the secretion of digestive enzymes by the marine crab, *Thalamita crenata*. With 6 Figures in the text 567

PFEIFFER, W., Über die Schreckreaktion bei Fischen und die Herkunft des Schreckstoffes. Mit 15 Textabbildungen 578

NEUHAUS, W., und R. WOHLGEMUTH, Über das Fächeln der Bienen und dessen Verhältnis zum Fliegen. Mit 18 Textabbildungen 615

KUMMER, H., Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung von Fortpflanzungs-Faktoren auf die Lebensdauer von *Drosophila melanogaster*-Weibchen. Mit 12 Textabbildungen 642

JANDER, R., Menotaxis und Winkeltransponieren bei Köcherfliegen (Trichoptera). Mit 4 Textabbildungen 680

BURKHARDT, D., und L. WENDLER, Ein direkter Beweis für die Fähigkeit einzelner Sehzellen des Insektenauges, die Schwingungsrichtung polarisierten Lichtes zu analysieren. Mit 2 Textabbildungen 687

Autorenverzeichnis 693

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 567—577 (1960)

Dept. of Zoology and Entomology, University of Hawaii, USA

ON THE SECRETION OF DIGESTIVE ENZYMES BY THE MARINE CRAB, *THALAMITA CRENATA*

By

P. B. VAN WEEL

With 6 Figures in the text

(Received August 16, 1960)

The study of the secretion of digestive juices is a fascinating subject, because by studying a gland throughout its secretory cycle the physiological processes of restitution and extrusion can be analyzed in the cells themselves. It is often also possible to detect the existence of rhythms on the cellular level, apart from those found in the entire organ, to follow changes in synchronicity, etc. By so doing an organ ceases to be simply a "secretory factory" and an insight is obtained as to how and where the various constituents of the secretion are produced. Particularly interesting, but also particularly difficult, is the investigation of digestive glands, which produce a secretion containing a host of components, *i. e.* enzymes. Are these produced by one and the same cell-type? If not, which cells produce what? Is there a collaboration between the various cell-types? The analysis of such a gland, containing more than one cell-type, is fraught with pitfalls and often unsurmountable difficulties. Rash conclusions will only lead to erroneous conceptions, as has been shown lately by VAN WEEL (1950, 1959) in the case of the mid-gut gland of a snail. More promising are glands of which only one cell-type produces the secretion and such a gland is represented by the mid-gut gland of arthropods. JACOBS (1928) has shown that only one celltype, his "Blasenzelle", is responsible for the secretion production in *Astacus* and VAN WEEL (1955) confirmed his results in a fresh-water crab. In both cases the microscopical structure of the gland is very much alike, although there seem to exist certain differences in the restitution cycles. JACOBS, and HIRSCH and JACOBS (1929) uncovered a certain rhythmic activity of this gland in *Astacus*, a rhythm which differed markedly from that found in *Atya* by VAN WEEL. The former investigators studied, apart from the histological picture, also changes in the enzyme production, whereas the latter based his conclusions entirely on histological analysis. Because the enzymological techniques used by HIRSCH and JACOBS, were rather crude, and because it was realized that only a histological analysis, as

Zeitschrift für vergleichende Physiologie

Begründet 1924 von K. von Frisch und A. Kühn. Band 1—29 (1934) unter dem Titel: „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abt. C: Zeitschrift für vergleichende Physiologie. Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für vergleichende Physiologie"** steht offen Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der allgemeinen Physiologie und speziellen Tierphysiologie, soweit die Ergebnisse als Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie gewertet werden können.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos, in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Die Arbeiten können in deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßt sein.

Manuskripte nehmen entgegen:

Professor Dr. K. von Frisch, München 9, Über der Klause 10,

Professor Dr. E. von Holst, Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen/Obb. über Starnberg,

Professor Dr. H. H. Weber, Institut für Physiologie im Max-Planck-Institut für Med. Forschung, Heidelberg, Jahnstraße 29.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Im Interesse der unbedingt gebotenen Sparsamkeit wollen die Herren Verfasser auf knappste Fassung ihrer Arbeiten und Beschränkung des Abbildungsmaterials auf das unbedingt erforderliche Maß bedacht sein.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901

Berlin-Wilmersdorf
Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

---

43. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 6. (Schluß-)Heft

Seite

WEEL, VAN P. B., On the secretion of digestive enzymes by the marine crab, *Thalamita crenata*. With 6 Figures in the text 567

PFEIFFER, W., Über die Schreckreaktion bei Fischen und die Herkunft des Schreckstoffes. Mit 15 Textabbildungen 578

NEUHAUS, W., und R. WOHLGEMUTH, Über das Fächeln der Bienen und dessen Verhältnis zum Fliegen. Mit 18 Textabbildungen 615

KUMMER, H., Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung von Fortpflanzungs-Faktoren auf die Lebensdauer von *Drosophila melanogaster*-Weibchen. Mit 12 Textabbildungen 642

JANDER, R., Menotaxis und Winkeltransponieren bei Köcherfliegen (Trichoptera). Mit 4 Textabbildungen 680

BURKHARDT, D., und L. WENDLER, Ein direkter Beweis für die Fähigkeit einzelner Sehzellen des Insektenauges, die Schwingungsrichtung polarisierten Lichtes zu analysieren. Mit 2 Textabbildungen 687

Autorenverzeichnis 693

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 567—577 (1960)

Dept. of Zoology and Entomology, University of Hawaii, USA

ON THE SECRETION OF DIGESTIVE ENZYMES BY THE MARINE CRAB, *THALAMITA CRENATA*

By

P. B. VAN WEEL

With 6 Figures in the text

(Received August 16, 1960)

The study of the secretion of digestive juices is a fascinating subject, because by studying a gland throughout its secretory cycle the physiological processes of restitution and extrusion can be analyzed in the cells themselves. It is often also possible to detect the existence of rhythms on the cellular level, apart from those found in the entire organ, to follow changes in synchronicity, etc. By so doing an organ ceases to be simply a "secretory factory" and an insight is obtained as to how and where the various constituents of the secretion are produced. Particularly interesting, but also particularly difficult, is the investigation of digestive glands, which produce a secretion containing a host of components, *i. e.* enzymes. Are these produced by one and the same cell-type? If not, which cells produce what? Is there a collaboration between the various cell-types? The analysis of such a gland, containing more than one cell-type, is fraught with pitfalls and often unsurmountable difficulties. Rash conclusions will only lead to erroneous conceptions, as has been shown lately by VAN WEEL (1950, 1959) in the case of the mid-gut gland of a snail. More promising are glands of which only one cell-type produces the secretion and such a gland is represented by the mid-gut gland of arthropods. JACOBS (1928) has shown that only one celltype, his "Blasenzelle", is responsible for the secretion production in *Astacus* and VAN WEEL (1955) confirmed his results in a fresh-water crab. In both cases the microscopical structure of the gland is very much alike, although there seem to exist certain differences in the restitution cycles. JACOBS, and HIRSCH and JACOBS (1929) uncovered a certain rhythmic activity of this gland in *Astacus*, a rhythm which differed markedly from that found in *Atya* by VAN WEEL. The former investigators studied, apart from the histological picture, also changes in the enzyme production, whereas the latter based his conclusions entirely on histological analysis. Because the enzymological techniques used by HIRSCH and JACOBS, were rather crude, and because it was realized that only a histological analysis, as

performed by VAN WEEL, could easily be erroneous, it was deemed justifiable to attack this problem again, using more adequate techniques. Since the histological picture of the gland of *Thalamita* did not vary appreciably from that found in the fresh-water crab, the reader is referred to that paper (VAN WEEL 1955) for histo- and cytological details.

Material and technique

The marine crab, *Thalamita crenata*, apparently introduced in the Oahuan coastal waters around 1948 (personal communication with Dr. R. W. HIATT), and now found in abundance here, was selected for the experiments. Male and female crabs with a carapace width of 5—6 cm were starved for 1—2 weeks before being used for the experiments. For each experiment 5 crabs were fed with fresh fish meat for 30 minutes, and the groups were killed at intervals of 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 16, 20 and 24 hours after feeding commenced. The glands were quickly removed, superficially dried with filter paper, rapidly weighed to $^1/_{10}$ of a gram and worked into a smooth brei. To 1 g of tissue brei 5 or 10 ml of 60% glycerol was added (depending on what enzyme was to be studied) and the mixture with a few drops of toluene kept in the refrigerator for 24 hours, after which it was centrifuged. The yellowish, slightly cloudy supernatant fluid was then filtered through glass wool and stored in the refrigerator. Although control experiments did not show an appreciable change in their enzymatic activity for about 5 days, the extracts were always used within 48 hours after being prepared.

Because the dilution of the extract was kept the same in each series of experiments, the enzymatic activity of the extracts in each series could be compared directly. It should be realized that errors, caused by wet-weighing, may affect adversely the data. However, the following protocols show that such errors were apparently not too serious in this case:

Both glands from starved crabs.

a) Gland . . . 2 g, extracted with 20 ml of 60% glycerol. Protease activity (GRASSMANN'S micro-titration) at p_H 6.97 . . . 1.238 ml of 0.01 n KOH.

b) Gland . . . 1.4 g, extracted with 14 ml of 60% glycerol. Protease activity at p_H 6.97 . . . 1.240 ml of 0.01 n KOH. The following buffer mixtures were used: K-biphthalate-HCl; K-biphthalate-NaOH; KH_2PO_4-NaOH; H_3BO_4 (in KCl)-NaOH. The p_H was determined with a BECKMAN'S glass electrode. Substrates used were: 5% gelatin, 2% soluble starch solution, 2% maltose, 2% saccharose, tributyrine. Details on the techniques used will be given in the description of the experiments.

Experiments

1. p_H-optimum

a) Protease. Extract: 10 g of tissue brei in 50 ml of 60% glycerol. 0.5 ml of extract was pipetted into each test tube of 2 series. Those of one series were heated in boiling water for 20 minutes and served as a control. To each of a pair of test tubes (one control, one experiment) were added 1 ml of appropriate buffer mixture, 1 ml of 5% gelatin solution and a few drops of toluene. After mixing the contents both series were incubated at 36° C for 1.5 hours. A second experiment was carried out with an incubation period of 2.5 hours. After incubation all test tubes were heated in boiling water for 20 minutes to arrest all

enzymatic activity at the same time. After cooling GRASSMANN'S and HEYDE'S alcoholic micro-titration method was used to determine the increase of acidity caused by proteolytic digestion.

Table 1. *Digestion period 1.5 hours*

pH	3.89	4.98	6.43	6.97	7.74	7.87	8.53	8.98	9.93
ml 0.01 n KOH experiment .	4.006	3.996	4.645	5.004	5.225	5.357	5.704	5.574	4.075
ml 0.01 n KOH control . . .	3.906	3.906	3.905	3.904	3.905	3.907	3.902	3.902	3.905
digestive activity . .	*0.100*	*0.090*	*0.740*	*1.100*	*1.320*	*1.450*	*1.802*	*1.672*	*0.170*

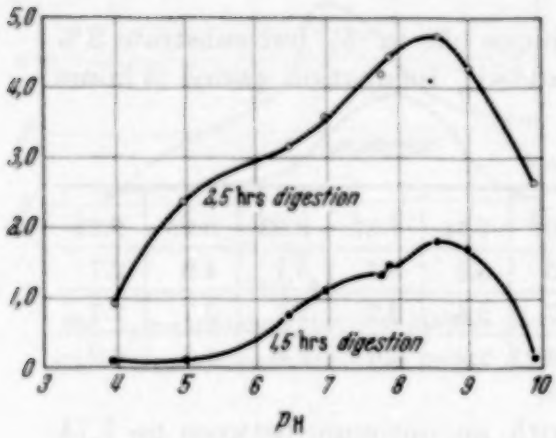


Fig. 1

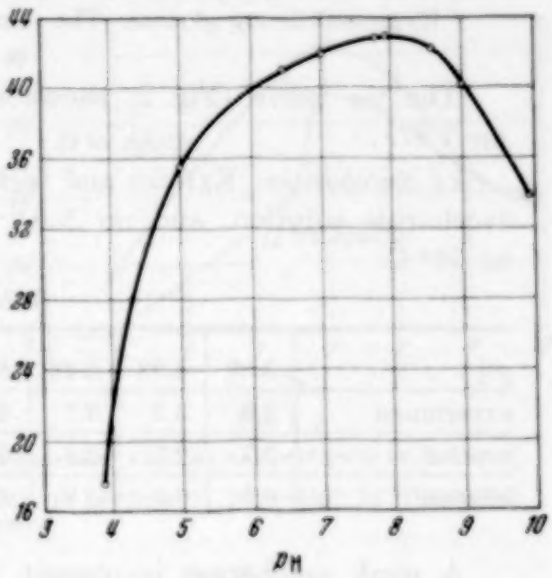


Fig. 2

Fig. 1. pH-optimum curves of protease. Abscissa: pH; ordinates: ml. 0.01 n KOH

Fig. 2. pH-optimum curve of amylase. Abscissa: pH; ordinates: mg. glucose

Table 2. *Digestion period 2.5 hours*

pH	3.89	4.98	6.43	6.97	7.74	7.87	8.53	8.98	9.93
ml 0.01 n KOH, experiment .	4.904	6.318	7.120	7.520	8.174	8.392	8.674	8.230	6.582
ml 0.01 n KOH, control . . .	3.972	3.964	3.970	3.968	3.974	3.970	3.972	3.970	3.968
digestive activity . .	*0.932*	*2.354*	*3.150*	*3.552*	*4.200*	*4.422*	*4.702*	*4.260*	*2.614*

The results (Fig. 1) show a rather sharp optimum at pH 8.53.

b) Amylase. Extract: 2 g of brei in 20 ml of 60% glycerol. 1 ml extract was pipetted into each test tube of 2 series. The enzyme of the

control series was inactivated by heat, after which to each test tube were added 1 ml of buffer mixture, 10 ml of 2% starch solution, 0,5 ml of 1% NaCl solution and a few drops of toluene. Incubation 5 hours at 36° C. The enzymes were then inactivated by heat and the reducing sugars titrated after Bertrand-Schoorl.

Table 3

p_H	3.89	4.98	6.43	6.97	7.74	7.87	8.53	8.98	9.93
experiment	21.7	39.6	45.2	46.3	46.9	47.1	46.4	44.1	37.9
control	4.1	4.1	4.2	4.4	4.0	4.1	4.1	3.9	4.1
increase[1]	*17.6*	*35.5*	*41.0*	*41.9*	*42.9*	*43.0*	*42.3*	*40.2*	*33.8*

[1] Expressed in mg glucose. The same for (*c*) and (*d*).

The p_H curve (Fig. 2) shows an optimum between p_H 7.74 and p_H 7.87.

c) Saccharase. Extract and technique like in (*b*), but substrate 2% saccharose solution, and no NaCl added. Incubation period 5 hours at 36° C.

Table 4

p_H	3.89	4.98	6.43	6.97	7.74	7.87	8.53	8.98	9.93
experiment	2.9	3.2	3.7	4.5	5.5	5.7	5.1	4.0	2.7
control	2.7	2.7	2.8	2.7	2.6	2.7	2.7	2.7	2.7
increase	*0.2*	*0.5*	*0.9*	*1.8*	*2.9*	*3.0*	*2.4*	*1.3*	*0.0*

A weak saccharase is present with an optimum between p_H 7.74 and p_H 7.87 (Fig. 3).

d) Maltase. Extracts and technique like in (*c*); substrate 2% maltose solution. Incubation period: 3 hours at 36° C.

Table 5

p_H	3.89	4.98	6.43	6.97	7.74	8.53	8.98	9.93
experiment	62.6	65.3	67.5	68.3	67.3	65.4	65.3	64.9
control	62.5	63.6	64.1	62.7	62.6	62.5	62.7	62.6
increase	*0.1*	*1.7*	*3.4*	*5.6*	*4.7*	*2.9*	*2.6*	*2.3*

The optimum activity appears at p_H 6.97 (Fig. 3). Maltase seems to be definitely stronger than saccharase.

e) Lipase (tributyrine-esterase). RONA's and MICHAELI's stalagmometric method, with tributyrine as a substrate, was used (see for techique

also VAN WEEL 1937, PROSSER and VAN WEEL 1958). In each test tube of a series 0.5 ml of extract (1 g of brei: 10 ml of 60% gylcerol), 1 ml of the appropriate buffer solution, 15 ml of the aqueous tributyrine solution and a few drops of toluene were mixed well and incubated at 36° C for 1.5 and 2 hours. Enzyme activity was arrested by heating. After cooling the percentage of digested tributyrine was determined.

Table 6. % *of digested tributyrine*

p_H	3.89	4.98	6.43	6.97	7.74	7.87	8.53	8.98	9.93
1.5 hrs. . . .	0	16	38	67	65	56	52	45	38
2 hrs.	16	44	73	81	76	69	65	46	36

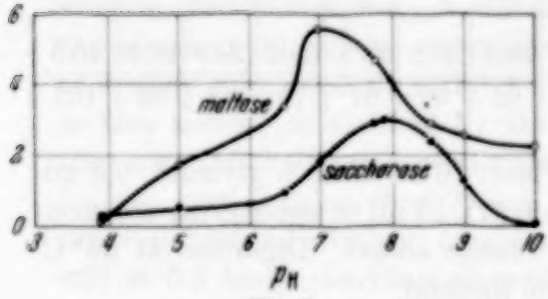


Fig. 3

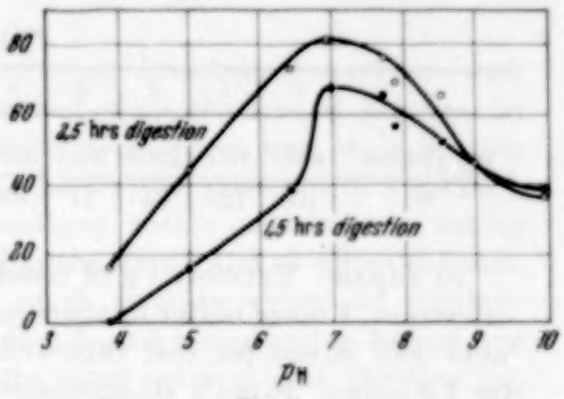


Fig. 4

Fig. 3. p_H-optimum curves of maltase and saccharase. Abscissa and ordinates as in Fig. 2

Fig. 4. p_H-optimum curves of lipase. Abscissa: p_H; ordinates: percentage of tributyrine digested

The optimum appears to be at p_H 6.97 (Fig. 4).

2. Changes in the enzyme concentration in the midgut gland during digestion.

a) Protease. Extract: 1 g of brei: 5 ml of 60% glycerol. 0.5 ml of extract, 1 ml of buffer mixture (p_H 8.53), 1 ml of 5% gelatin solution, and a few drops of toluene per test tube were well mixed. For each "step" (time interval chosen after feeding commenced) a control was prepared in the same way, using heat-inactivated extract. Experiments and controls were incubated for 2.5 hours at 36° C, after which the enzymes were inactivated by heat. Titration as in *1a*. All the results obtained (also those of the amylase- and lipase experiments) were also expressed as a percentage of the value found in the starved crabs (= 100).

b) Amylase. Extract: 1 g of brei: 10 ml of 60% glycerol. In each test tube 1 ml of extract was well mixed with 1 ml of buffer solution (p_H 7.87), 10 ml of 2% starch solution, 0.5 ml of 1% NaCl and a few

Table 7

	S[2]	1	2	3	4	5	6	8	12	16	20	24 hrs.
ml 0.01 n KOH[1]	4.71	5.34	2.09	3.39	4.39	4.59	4.72	4.71	3.02	2.75	4.09	4.68
%	100	113	44	72	93	97	100	100	64	58	86	99

[1] Increase in acidity, expressed in ml KOH.
[2] S = starved crabs.

drops of toluene. For each "step" a control was prepared. Digestion at 36° C for 5 hours. Bertrand-Schoorl sugar titration. The data show the amount of reducing sugar present, expressed in mg glucose, as a result of the digestion.

Table 8

	S	1	2	3	4	5	6	8	12	16	20	24 hrs.
mg glucose	40.0	49.8	25.6	28.3	33.2	36.8	38.2	38.8	30.4	28.3	37.3	40.6
%	100	125	64	71	83	92	96	97	76	72	92	102

c) Lipase. Extract: 1 g of tissue brei: 10 ml of 60% glycerol. 0.5 ml of extract, 1 ml of buffer mixture (p_H 6.97), 15 ml of tributyrine solution were well mixed per test tube and toluene added. Digestion at 36° C for 1.5 hours. Rona's stalagmometric method.

Table 9

	S	1	2	3	4	5	6	8	12	16	20	24 hrs.
% tributyrine digested	73	79	31	40	58	66	68	70	54	49	66	72
%	100	108	42	55	79	90	93	96	74	67	90	99

3. Discussion of the results

The midgut gland of crustaceans is certainly the main source of digestive enzymes, if not the only one. Apart from that it plays also a role in the resorption of the digested material (van Weel 1955, Matthews 1955). Although the enzymes present in the secretions (as found in the gastric juice) have been analyzed more than once [Krüger 1929, Krüger and Graetz 1928 (cited from Prosser et al. 1952), Mansour-Bek 1932, Shinoda 1928, Wiersma and van der Veen 1928], comparatively little has been done on the physiology and the dynamics of this gland. A very extensive analysis of the cytological changes in *Astacus* has been performed by Jacobs (1928). Van Weel

(1955) repeated the same kind of analysis in another crustacean, *Atya spinipes*, in which he could confirm most of JACOBS' results, although a slightly different cycle of restitution exists in this animal. Here a rhythm of extrusion was detected with a maximum at 1, another one at about 12 hours after feeding commenced. Minima in secretoric activity appeared at 4 and at 15—20 hours after feeding, after which the starvation level of activity was resumed in a few hours. JACOBS and HIRSCH (1929), who only investigated the period of 6.5—7 hours after feeding, reported in *Astacus* a maximum at 1.5—2 hours, and one at about 6 hours. All these results were based on cell counting, a method which gives at the most only fair results, as mentioned in the introduction. Errors are easily made and complex rhythms, disclosed in this way only, should be distrusted if they cannot be confirmed with other methods.

HIRSCH and JACOBS augmented their histological analysis with enzyme determinations. A definite and clear rhythm of protease in the gland could not be ascertained, although there was an indication af a weak maximum at about 1—1.5 hours (the existence of 2 maxima in this period, as claimed by the authors, seems questionable, taking into account the large spread found in the data), and at about 6 hours. In the gastric juice they found a much stronger expressed rhythm: protease showed distinct maxima at 2.5—3.5 hours and a higher one still at 5.5 hours; amylase showed the same pattern, with the first top appreciably higher than the second one. Since the enzymes of the gastric juice are produced by the same gland cell at the same time, the differences found in activity between gland extract and gastric juice were baffling. One would expect the rhythm of the gland to be of the same order as that found in the gastric juice!

Turning now to the results of the experiments reported in this paper, the p_H optima found are surprisingly high when compared with those found in many other arthropods. SHINODA (1928) for instance reported in *Astacus* for protease an optimum of about p_H 6, MANSOUR-BEK (1932) in *Maja* one of p_H 6—6.4[1]. In *Thalamita* the p_H-optimum appears to be at p_H 8.53. However, rather high p_H-optima have been recorded also: *Daphnia* . . . p_H 7.4 (HASLER 1935), *Calamus* . . . p_H 8.0—8.5 (BOND 1934), *Limulus* . . . p_H 9 (SCHLOTTKE 1935).

Amylase has an optimum in *Thalamita* between p_H 7.74 and 7.87. In *Astacus* WIERSMA and VAN DER VEEN (1928) found an optimum at

[1] PROSSER (1952), citing MANSOUR-BEK, mentions in his "Comparative Animal Physiology" a p_H-optimum of p_H 7.2—7.4 (casein) and p_H7.8 (gelatin), but this citation is obviously erroneous, since MANSOUR-BEK found for casein digestion an optimum at p_H 6.0—6.4, for gelatin digestion one at p_H 6.2—6.3, for collagen digestion an optimum at p_H 6.4.

pH 5.6—5.7. The data for saccharase and maltase are respectively: *Thalamita* . . . pH 7.87 and pH 6.97; *Astacus* . . . pH 5.7—6.3 and pH 5.5—6.0. The pH optimum for lipase of *Thalamita:* pH 6.97, seems to be closer to the optimum found in other arthropods: *Astacus* . . . pH 5.5—7.0 (KRÜGER and GRAETZ 1928, cited from PROSSER et al. 1952; VONK 1937). *Limulus* shows the highest optimum at pH 7.7.

With respect to the existence of a rhythm found in the midgut gland, *Thalamita* shows two "waves" of secretion for all 3 enzymes tested: protease, amylase and lipase (Fig. 5). The first increase in enzymatic activity of the gland extract is quite sudden and reaches its top one

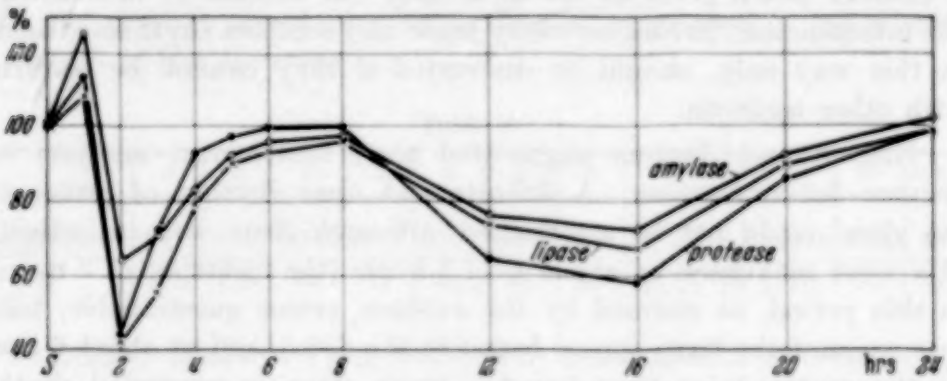


Fig. 5. Changes in enzyme contents (protease, amylase, lipase) of the midgut gland during the 24 hours period after feeding commenced. Abscissa: time in hours, S: starved crab; ordinates: percentage change as compared with the starvation value = 100

hour after feeding commenced. Then the activity drops off steeply to reach a low minimum at 2 hours, after which the activity curve rises again to a second (though lower) maximum. This is maintained for about 4 hours (between the 4th and the 8th hour after feeding). The enzyme activity is, during this period, of about the same order as that found in the starved crabs (Fig. 5). The amount of enzymes produced decreases again to reach a second, now broad, minimum of about 4 hours duration (12—16 hours after feeding), after which the enzymes are built up again, rather slowly and evenly, so that 22—24 hours after feeding the starvation value (storage gland) is reached.

The course of these curves differs greatly from that found by HIRSCH and JACOBS in *Astacus* (compare Fig. 5 with Fig. 6). This difference can be caused either by the fact that the gland activity of two different species is compared, or because of a not adequate technique for the determination of the enzyme strength, used by HIRSCH and JACOBS. The latter seems to be the case: when all digestive enzymes are produced by one and the same cell-type (and this seems indeed to be the case, see JACOBS 1928, VAN WEEL 1955), then the amylase- and protease curve should show maxima and minima lying on the same time ordinates.

When we study HIRSCH's and JACOBS' data, then this requirement is met for the first 2.5 hours, but after that the amylase curve shows a decline up till 4.5 hours, whereas the protease curve shows an increase between 3 and 4 hours! The amylase minimum is reached at 4.5 hours, that of the protease at 5 hours. The latter shows a maximum again at 5.5 hours, amylase at 6 hours!

Because the histological picture of *Thalamita*'s midgut gland is practically the same as that found in *Astacus* and *Atya*, we may assume that the extrusion cells (VAN WEEL's E-cells, JACOBS' "Blasenzellen"), on extruding, set free the digestive enzymes. In the starved crab the "storage" gland contains many E-cells, ready to extrude their secretion. Also a great many restitution stages in the last period of restitution are found here, whereas early stages are comparatively few. JACOBS (1928) has pointed out (and this was confirmed by VAN WEEL 1955), that these stages are probably "dormant", meaning that the restitution processes are very much slowed down. On a "signal" (probably the feeding stimulus) the E-cells extrude their contents and the restitution processes become markedly accelerated, so that in a short time many more ripe E-cells appear, which on their turn extrude their secretion. The result is that a short time after feeding commenced (a) a "wave" of secretion appears, and (b) that the gland drastically changes its microscopical picture: very few ripe E-cells and late restitution stages are visible. Most cells appear in the earliest stages of restitution. Hence the first

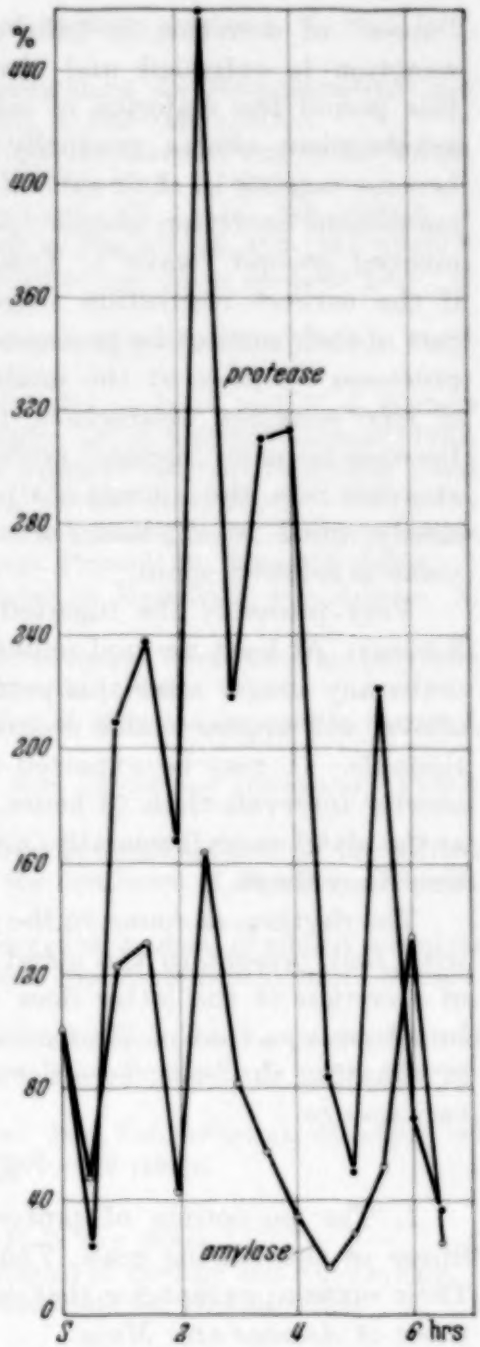


Fig. 6. Changes in protease- and amylase contents of the midgut gland of *Astacus* during the first 6.5 hours after feeding. Abscissa: time in hours, S: starved crayfish; ordinates: percentage change as compared with the starvation value = 100. Computed from data of HIRSCH and JACOBS 1929

"wave" of secretion is followed quickly by a deep "trough": little secretion is extruded and the phase of restitution takes over. In this period the majority of cells seems to work synchronously. This synchronism abates gradually to a semi-synchronism, in that cells become lagging in their rate of restitution, so that now a more or less continuous secretion occurs (period of 5—8 hours after feeding commenced, second "wave"). Towards the end of this period it seems as if the earliest restitution stages become "dormant" again, that the rate of their restitution processes decreases, whereas the older restitution processes continue at the unaltered speed. This results in a decrease of ripe secretion production, causing a second minimum to appear. Because no new "signals" arrive any longer, restitution continues now at a slow rate, the amount of ripe secretion present in the gland increases slowly, until 22—24 hours after feeding commenced the "starvation" value is reached again.

Very probably the ingested food has been completely digested in 8 hours. At least no food remainders were found in the stomach of the crabs any longer after this period. Whether the rhythm, as described above, will appear under normal conditions of feeding, is highly questionable. It may be expected that normally the crabs obtain food at shorter intervals than 24 hours, and consequently "signals" will arrive at the gland more frequently, accelerating the restitution processes each time they do so.

The rhythm, as found in the gland of *Thalamita*, compares favorably with that present in the gland of *Atya*, although the second "wave" of secretion of the latter does not show in the cell countings such a broad crest as that of *Thalamita*. But this may be due to errors made in counting the cells, or otherwise to a slight difference between the two species.

Summary

1. The p_H-optima of protease, amylase, saccharase, maltase and lipase of the marine crab, *Thalamita crenata*, have been determined. Their optima, except for that of lipase, are high when compared with those of *Astacus* and *Maja*.

2. After starvation the midgut gland shows a rhythmic activity after feeding commenced, with two maxima of secretion at 1 and 5—8 hours after feeding. The probable mechanism of this type of secretoric activity is discussed.

References

Papers marked with * could not be consulted.

Bond, R. M.: Digestive enzymes of the pelagic copepode, *Calamus finmarchius*. Biol. Bull. **67**, 461—465 (1934).

HASLER, A. D.: The physiology of digestion of plankton crustacea. I. Biol. Bull. **68**, 207—214 (1935).

HIRSCH, G. C., and W. JACOBS: Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. I. Z. vergl. Physiol. **8**, 102—144 (1929).

JACOBS, W.: Untersuchungen über die Cytologie der Sekretbildung in der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. Z. Zellforsch. **8**, 1 (1928).

KRÜGER, P.: S.-B. preuß. Akad. Wiss., phys.-math. Kl. **2**, 548—546 (1929)*.

—, and E. GRAETZ: Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **45**, 463—514 (1928)*.

MANSOUR-BEK, J. J.: Die proteolytischen Enzyme von *Maja squinado* Latr. Z. vergl. Physiol. **17**, 153—208 (1932).

MATTHEWS, D. C.: Feeding habits of the sand crab *Hippa pacifica* (Dana). Pacif. Sci. **9**, 382—386 (1955).

PROSSER, C. L., D. W. BISHOP, F. A. BROWN, TH. L. JAHN and V. J. WULFF: Comparative animal physiology. Philadelphia: W. B. Saunders Company 1952.

—, and P. B. VAN WEEL: Effect of diet on digestive enzymes in midgut gland of African giant snail, *Achatina fulica* Fér. Physiol. Zool. **31**, 171—178 (1958).

SCHLOTTKE, E.: Biologische, physiologische und histologische Untersuchungen über die Verdauung von *Limulus*. Z. vergl. Physiol. **22**, 359—413 (1935).

SHINODA, O.: Über die Eiweißlösenden Enzyme im Magensafte von *Astacus*. Z. vergl. Physiol. **17**, 323—364 (1928).

ULLMANN, T.: Über die Einwirkung der Fermente einiger Wirbellosen auf polymere Kohlenhydrate. Z. vergl. Physiol. **17**, 520—536 (1928).

VONK, H. J.: The specificity and collaboration of digestive enzymes in metazoa. Biol. Rev. **12**, 245—284 (1937).

WEEL, P. B. VAN: Die Ernährungsbiologie von *Amphioxus lanceolatus*. Pubbl. Staz. zool. Napoli **16**, 221—272 (1937).

— Contribution to the physiology of the glandula media intestini of the African giant snail, *Achatina fulica* Fér., during the first hours of digestion. Physiol. comp. ('s-Grav.) **2**, 1—19 (1950).

— Processes of secretion, restitution, and resorption in gland of midgut (glandula media intestini) of *Atya spinipes* Newport (Decapoda-Brachyura). Physiol. Zool. **28**, 40—54 (1955).

— The effect of special diets on the digestion processes (enzyme production and resorption) in the Africans snail, *Achatina fulica* Bowdich. Z. vergl. Physiol. **42**, 433—488 (1959).

WIERSMA, C. A. G., and R. VAN DER VEEN: Die Kohlenhydratverdauung bei *Astacus fluviatilis*. Z. vergl. Physiol. **7**, 269—278 (1928).

Prof. Dr. P. B. VAN WEEL,
University of Hawaii, Department of Zoology and Entomology,
Div. of Physiology, Honolulu 14, Hawaii, USA

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 578—614 (1960)

Aus der Zoologischen Station Neapel, der Biologischen Station Arcachon, der Biologischen Anstalt Helgoland und dem Zoologischen Institut der Universität München

ÜBER DIE SCHRECKREAKTION BEI FISCHEN UND DIE HERKUNFT DES SCHRECKSTOFFES*,**

Von

WOLFGANG PFEIFFER

Mit 15 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. Juli 1960)

Inhaltsverzeichnis

Seite

A. Einleitung 578
B. Material und Methode 581
C. Ergebnisse 582
I. Untersuchungen zur Verbreitung der Schreckreaktion 582
1. Versuche mit Süßwasserfischen 582
2. Versuche mit Meeresfischen 582
II. Optisch ausgelöste Fluchtreaktionen 585
III. Der Entstehungsort des Schreckstoffes in der Haut der Fische . . . 587
1. Die Histologie der Fischhaut mit besonderer Berücksichtigung der Kolbenzellen 587
2. Kontrollversuche mit Fischbarteln 598
3. Versuche über die Schreckreaktion der *Poecilidae* 600
4. Die Histologie der Fischepidermis in Zusammenhang mit der Lebensweise der Fische 600
IV. Ist die Schreckreaktion an das Leben im Süßwasser gebunden? Versuche mit einem japanischen Meerescypriniden 601
V. Übersicht über die Verbreitung von Schreckstoffzellen und Schreckstoff bei Fischen 609
Zusammenfassung 610
Literatur 611

A. Einleitung

Bei Hautverletzung einer Elritze (*Phoxinus laevis* AG.) tritt aus der Wunde ein Schreckstoff aus, der sich im Wasser rasch verbreitet, in starker Verdünnung von anderen Elritzen gerochen wird und diese zur Flucht veranlaßt. Der Schreckstoff bewirkt ferner eine oft lange anhaltende Steigerung der Wachsamkeit. Die geringe Menge Schreckstoff, die frei wird, wenn ein Hecht eine Elritze mit den Zähnen verletzt, ist ausreichend, um einen Schwarm zur Flucht zu veranlassen (K. VON

* Herrn Prof. Dr. K. v. FRISCH danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und seine ständige und fördernde Anteilnahme.

** Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

Frisch 1941). „Eine Schreckstoffmenge, die einem $^1/_{100}$ mm² Hautfläche entstammt, genügt, um einen Elritzenschwarm in einem 14-Liter-Becken vom Futter zu vertreiben" (F. Schutz 1956). Elritzen reagieren auch auf die Hautextrakte verwandter Arten, jedoch nicht auf Extrakte systematisch ferner stehender Arten (K. von Frisch). Die Schreckreaktion ist bei Cypriniden allgemein verbreitet und kommt auch bei friedlichen Characiden und Cobitiden und einigen weiblichen Poeciliden vor. Dagegen haben Barsche, Salmoniden und viele andere Arten keine Schreckreaktion. Die unspezifische Reaktion der Welse und Aale darf nicht mit der Schreckreaktion der Elritze gleichgesetzt werden (F. Schutz). Die Schreckreaktion hat bei Schwarmfischen die Bedeutung, den Schwarm vor größeren Verlusten durch räuberische Überfälle zu schützen (K. von Frisch).

Eine ähnliche Reaktion wurde von I. Eibl-Eibesfeldt (1949) und I. Hrbacek (1950) bei den Kaulquappen der Erdkröte *(Bufo bufo* L.) festgestellt und von E. Kulzer (1954) näher untersucht. Diese Tiere bilden Massenansammlungen, und ihre Schreckreaktion hat offenbar die gleiche biologische Bedeutung. Der Schreckstoff ist ebenfalls in der Haut lokalisiert und wird bei Verletzung frei und geruchlich wahrgenommen.

W. Kempendorff (1942) entdeckte eine Fluchtreaktion bei der südamerikanischen Wasserschnecke *Helisoma nigricans* Spix. Die Schnecken kriechen zu Boden und graben sich ein, wenn eine Schnecke zerquetscht wird.

E. Heintz (1954, 1955, 1958) glaubt eine Schreckreaktion unter anderem bei *Paramaecium*, *Tubifex*, *Drosophila*, *Tenebrio*, der Biene und der weißen Maus gefunden zu haben und hält sie daher für eine allgemeine Erscheinung im Tierreich. Zerriebene Tiere und ihre Asche sollen eine Schreckwirkung und eine giftige Wirkung haben. Beide Wirkungen sind artspezifisch. Bei der Biene ist die Schreckwirkung groß, wenn das Pulver trocken ist, klein, wenn es feucht ist. Während bei *Apis* und *Tubifex* größere Mengen Pulver abschreckend wirken, sind kleinere Mengen anziehend.

Es ist leicht ersichtlich, daß es sich hier um ganz andere Erscheinungen als bei der vorher besprochenen Schreckreaktion handelt. Ob sich die von Heintz beschriebenen Reaktionen untereinander vergleichen lassen, halte ich für fraglich. Seit der Arbeit von K. v. Frisch (1941) hat sich der Name „Schreckstoff" für eine Substanz, die unter natürlichen Bedingungen frei wird und bei Artgenossen eine Schutzreaktion hervorruft, eingebürgert. Man sollte für abstoßende Stoffe, deren Charakter und Wirkung in anderer Richtung liegen, eine andere Bezeichnung wählen, um eine Verwässerung des Begriffes Schreckstoff zu vermeiden.

J. R. BRETT und D. MACKINNON (1954) beschreiben eine Alarmreaktion bei flußaufwärts wandernden Lachsen (*Oncorhynchus kisutch* und *O. tshawytscha*). Durch Geruch von Seehund-, Seelöwen-, Bären- und Menschenhaut, den Hauptfeinden der Lachse, werden schreckhaftes Verhalten, Stillstand der Wanderung und Umkehr ausgelöst. Auch bei dieser Reaktion handelt es sich um eine ganz andere Erscheinung als bei der Schreckreaktion der Elritze. Der Feind wird an seinem Geruch erkannt, worauf die Tiere fliehen. Das ist nicht dasselbe wie der Alarm durch den spezifischen Schreckstoff von Artgenossen.

Während wir durch die Arbeiten von K. v. FRISCH (1941) und F. SCHUTZ (1956) über die Schreckreaktion bei Süßwasserfischen gut unterrichtet sind, fehlt bisher eine Untersuchung der Meeresfische. Meine Aufgabe war zunächst diese Lücke auszufüllen.

Die Untersuchungen wurden während eines Aufenthaltes an der Zoologischen Station in Neapel[1] von Juni mit Oktober 1957, an der Biologischen Station in Arcachon[2] (Gironde) von Juni mit Oktober 1958 und an der Biologischen Anstalt Helgoland von August mit November 1959 durchgeführt. Die Versuche an der Zoologischen Station Neapel verliefen alle negativ. Da das Seewasser dort mehrmals durch die Aquarien läuft, ehe es erneuert wird, und viele Seetiere mit Fischen gefüttert werden, lag der Verdacht nahe, daß ein in der Fischhaut möglicherweise vorhandener Schreckstoff dauernd im Wasser gelöst ist und die Versuchsschwärme dadurch so abgestumpft sind, daß sie gar nicht mehr reagieren. Daß eine rasche Abstumpfung eintreten kann, zeigten K. v. FRISCH (1941) und F. SCHUTZ (1956) und habe ich selbst wiederholt feststellen müssen. Um diese Möglichkeit auszuschalten, wurden die Versuche in Arcachon nachgeprüft und fortgesetzt. In der Biologischen Station Arcachon, wie auch in der Biologischen Anstalt Helgoland, läuft dauernd frisches Seewasser vom Meer direkt in die Aquarien. Da es in Arcachon aus technischen Gründen nicht möglich war, ausreichend *Gadidae* und *Clupeidae* zu bekommen, untersuchte ich diese und andere Familien an der neuen Biologischen Anstalt auf Helgoland.

---

[1] Der Deutschen Forschungsgemeinschaft gilt mein aufrichtiger Dank für finanzielle Unterstützung und die Überlassung eines Arbeitsplatzes an der Biologischen Anstalt Helgoland, dem Bayerischen Kultusministerium danke ich für Überlassung des Arbeitsplatzes an der Zoologischen Station Neapel; die Arbeit wurde ferner durch Mittel gefördert, die Herrn Prof. K. v. FRISCH von seiten der *Rockefeller Foundation* zur Verfügung standen.

[2] Herrn Prof. Dr. ROBERT WEILL, Direktor der Biologischen Station Arcachon (Gironde), spreche ich meinen sehr verbindlichen Dank für seine großzügige Gastfreundschaft aus.

B. Material und Methode

In Neapel, Arcachon und Helgoland wurden an 225 verschiedenen Versuchsgruppen insgesamt 261 Versuche durchgeführt. Es wurden 66 Arten Meeresfische aus 49 Gattungen und 32 verschiedenen Familien auf das Vorhandensein der Schreckreaktion geprüft. Die zu untersuchenden Arten wurden mit dem Ziel ausgewählt, einen aufschlußreichen Querschnitt durch die Systematik zu erhalten. Es wurden dabei schwarmbildende Arten bevorzugt. Um einwandfreie Ergebnisse zu bekommen, war es wichtig, eine Abstumpfung zu vermeiden, die durch verletzte Fische im Aquarium oder durch zu häufige Versuche vorkommen kann. Wo es nicht gelang eine Verletzung beim Fang durch Schöpfen der Fische mit Plastikbeuteln (Verheijen 1955) ganz zu vermeiden, wurden verletzte Tiere nach dem Fang sofort ausgeschieden. Deshalb nahm ich an allen Ausfahrten selbst teil. Um eine Abstumpfung durch verletzte Artgenossen ganz auszuschalten, hielt ich manchmal Fische in Einzelhaft, die ich dann getrennt untersuchte oder, nachdem sie gut eingewöhnt waren und sich als gesund erwiesen hatten, zu Schwärmen vereinigte. Der Gesundheitszustand aller Fische wurde von mir täglich sorgfältig überwacht. In den meisten Fällen wurde mit jedem Schwarm nur ein Versuch durchgeführt, sonst legte ich zwischen 2 Versuche immer eine Pause von mehreren Wochen. Zur Sicherung der Ergebnisse wurden, falls möglich, mehrere Schwärme einer Art und mehrere Arten einer Familie untersucht. Die Fische wurden je nach Größe und Zahl in Rahmenaquarien von 60—600 Liter, Eternitbecken von 200 bis 900 Liter, Betonbecken von 7000 Liter mit Durchlauf und Vollglasaquarien von 10—20 Liter mit Durchlüftung gehalten. Eine Gruppe von 5—10, manchmal auch mehr Individuen bildete einen Schwarm. Die Versuche wurden immer erst durchgeführt, wenn die Tiere völlig zahm waren und sich bei Annäherung an das Aquarium am Futterplatz versammelten. Die Zeit, die verging, bis die Fische mit ihrer neuen Umgebung vertraut waren, schwankte zwischen wenigen Tagen und mehreren Wochen. Sie ist unter anderem abhängig von der relativen Größe des Aquariums und von Art zu Art verschieden. Als Futterplatz wurde ein Bereich in einer bestimmten Aquariumecke im Umkreis des eingeworfenen Futters von 5—20 cm bezeichnet, je nach Temperament und Größe der Fische, die zwischen 2 und 50 cm schwankte.

Als Futter diente in Neapel Krabben- und Miesmuschelfleisch (*Mytilus*), in Arcachon wurde Austern- und, wie auch auf Helgoland, Miesmuschelfleisch gefüttert. Eine Minute vor jeder Fütterung wurde Wasser eingegossen, um zu kontrollieren, daß auf den Strömungsreiz allein keine Reaktion erfolgt. Bei der Fütterung wurde 5 min lang nach je 15 sec die Zahl der Fische am Futterplatz notiert. Vor jedem Versuch, bei dem 1 min vor der Fütterung Hautextrakt eingegossen wurde, führte ich meistens eine registrierte Kontrollfütterung durch, um das Normalverhalten der Tiere festzustellen. Ein Protokollauszug zeigt die Versuchsdurchführung.

In diesem Fall wurde *Smaris vulgaris* C. V. (*Maenidae*), Schwarm 7, auf Schreckreaktion geprüft. Sechs Fische à 8 cm, gefischt im Golf von Neapel als Beifang von Sardinen, also völlig unverletzt mit Plastiksäcken aus dem Meer geschöpft. Seit 16. 7. 57 in einem 20-Liter-Aquarium. Als Futter diente *Mytilus*.

18. 7. 57 Kontrollfütterung[1]: 0, 0, 0, 0; 0, 0, 1, 0; 1, 3, 0, 5; 0, 0, 3, 4; 3, 3, 0, 0. Die Fische sind sehr schreckhaft.

24. 7. 57 Kontrollfütterung: 6, 4, 4, 5; 3, 4, 4, 5; 3, 4, 2, 2; 3, 3, 3, 3; 4, 3, 5, 4. Schon ziemlich vertraut.

26. 7. 57 Kontrollfütterung: 6, 6, 6, 6; 6, 5, 5, 5; 6, 4, 6, 5; 5, 5, 4, 5; 5, 3, 2, 4.

[1] Die Zahlen bedeuten die Anzahl der Fische am Futterplatz nach je 15 sec.

27. 7. 57 Versuch mit 1 n *Smaris*-Extrakt + Hautstückchen[1]: 6, 5, 4, 6; 6, 5, 5, 5; 6, 4, 6, 5; 5, 5, 4, 5; 5, 3, 2, 4. Verhalten normal, knabbern an den Hautstückchen ihres Artgenossen und fressen sie. *Keine Schreckreaktion.*

Das Vorhandensein und die Stärke der Schreckreaktion wurden mit den von K. v. FRISCH (1941, S. 54) eingeführten Reaktionsstufen durch die Symbole von — bis +++ protokolliert.

Um die Fische durch zu kräftige Beleuchtung nicht zu beunruhigen, wurden die meisten Aquarien nicht zu hell aufgestellt, Glasaquarien notfalls gestrichen und abgedeckt. Eine Haltung bei gedämpftem Licht erwies sich besonders bei Arten, die auch in Freiheit in wenig durchleuchtetem Biotop leben, als vorteilhaft. Mit scheuen Fischen wurden die Versuche bei Dämmerlicht durchgeführt. Nach jedem Versuch wurden die Aquarien sorgfältig gereinigt, um Reste des Hautextraktes zu entfernen.

Zur Sicherung der in den Aquarien gewonnenen Ergebnisse machte ich, soweit möglich, Freilandbeobachtungen. Dabei leisteten mir Flossen, Tauchbrille, Schnorchel und manchmal ein Preßluftgerät gute Dienste.

C. Ergebnisse

I. Untersuchungen zur Verbreitung der Schreckreaktion

1. Versuche mit Süßwasserfischen

Ehe ich Meeresfische auf Schreckstoff prüfte, machte ich zahlreiche Versuche über die Schreckreaktion der bereits von K. v. FRISCH (1941) und F. SCHUTZ (1956) untersuchten Süßwasserfische. Mit den Beobachtungen von K. v. FRISCH stimmen meine Ergebnisse ganz, mit denen von F. SCHUTZ im wesentlichen überein. Zunächst beobachtete ich Elritzen. Hier wurden die individuellen Verschiedenheiten der Schwärme deutlich, wie sie schon von K. v. FRISCH und F. SCHUTZ beschrieben worden sind.

Zwischen meinen Aufenthalten an den Meeresbiologischen Stationen in Neapel, Arcachon und Helgoland führte ich im Winter 1957/58 und 1958/59 und 1959/60 weitere Versuche mit bisher bereits untersuchten und mit noch nicht untersuchten Süßwasserfischen im Zoologischen Institut München durch, auf die ich im einzelnen später (s. S. 600) eingehen werde. Die von mir an Süßwasserfischen durchgeführten Versuche sind aus Tabelle 1 (S. 602) ersichtlich. Die Ergebnisse stimmen größtenteils mit den bisherigen Beobachtungen überein.

2. Versuche mit Meeresfischen

K. v. FRISCH erwartete eine Schreckreaktion vor allem bei schwarmbildenden Friedfrischen. F. SCHUTZ stellte fest, daß die schwarmbildende Lebensweise allein für die Verbreitung dieser Reaktion nicht

[1] Die Zubereitung des Hautextraktes geschah in der von K. v. FRISCH (1941) beschriebenen Weise. 0,1 g Haut wurde in 100 cm³ Wasser $^1/_2$ Std lang extrahiert und geschüttelt. Der Extrakt wurde dekantiert oder mit den Hautstückchen eingegossen. Unverdünnter Extrakt wurde nach K. v. FRISCH als normal = n bezeichnet. Bei allen Versuchen wurde frischer Extrakt verwendet.

maßgebend ist, sondern daß Verwandtschaftsverhältnisse wesentlich mitspielen. Es galt daher, wie bereits erwähnt, Vertreter aus möglichst vielen Familien auf die Schreckreaktion zu prüfen und dabei schwarmbildende Arten besonders zu berücksichtigen. Die Meeresfische kann man nach ihrer mehr oder weniger geselligen Lebensweise in 3 Gruppen einteilen:

a) Ausgesprochene Schwarmfische: *Clupeidae*, *Scombridae*, *Trachurus*, *Ammodytes*, *Atherina* u. a.

b) Gesellig lebende Arten, die meistens in lockeren Verbänden oder kleineren Gruppen schwimmen: *Merlangus*, *Marone*, *Smaris*, *Sparidae*, *Mugilidae* u. a.

c) Solitäre Arten: *Apodes*, *Serranus*, *Apogon*, *Labridae*, *Trachinidae*, *Gobiidae*, *Callionymoidea*, *Scleroparei* u. a.

Bei Betrachtung dieser 3 Gruppen fällt folgendes auf: Die unter a) genannten, für meine Versuche besonders wichtigen, Fische sind vorwiegend leicht verletzliche, zarte Hochseefische. Deshalb ist die Beschaffung von genügend Schwärmen mit besonderen Schwierigkeiten verbunden. Die unter b) und c) aufgeführten Fische halten sich vorwiegend in Boden- oder Küstennähe auf. Da sie manche Gebiete in großer Individuenzahl dicht besiedeln, wäre eine Schreckreaktion auch bei ihnen biologisch sinnvoll.

a) Ausgesprochene Schwarmfische: Clupeidae, Trachurus, Scombridae. In Neapel verliefen die Versuche mit Sardinen und Sardellen negativ. Sardinen- und Sardellenhaché wurde verspeist. In Arcachon war es nicht möglich, Sardinen in einwandfreiem Zustand zu bekommen. An der spanischen Atlantikküste werden Sardinen von den spanischen Fischern mit Sardellenhaché angelockt. Bei dem Fang von Sardinen und Sardellen werden deren Häute derart verletzt, daß an der Fangstelle auf dem Wasser unzählige Schuppen schwimmen. Es müßte also beim Fang eines viele Zentner schweren Schwarmes eine große Menge Schreckstoff frei werden. Doch wird oft mehrmals hintereinander an derselben Stelle mit Erfolg gefischt. Sichere Ergebnisse konnten in Helgoland an zwei einwandfreien Schwärmen junger Heringe gewonnen werden, die mir Herr Dr. G. Hempel freundlicherweise zur Verfügung gestellt hat[1]. Diese 8 cm großen Fische wurden in Arenabecken gehalten und mit Plankton und Eiern von *Eupagurus bernhardus* L. gefüttert. Die Versuche bestätigten die an den Neapler Sardinen und Sardellen gewonnenen negativen Ergebnisse[2].

[1] Für seine wertvolle Hilfe danke ich Herrn Dr. G. Hempel auch an dieser Stelle ganz besonders.

[2] F. J. Verheijen [Publ. Staz. zool. Napoli **31**, 1, 146—152 (1959)] führte 5 Versuche mit verschiedenen *Clupeidae* in Neapel und Utrecht durch und kam ebenfalls zu dem Ergebnis, daß *Clupeidae* keine Schreckreaktion haben.

Alle Versuche mit *Trachurus trachurus* (L.) und der einzige Versuch mit *Pelamys sarda* BLOCH. verliefen negativ. Die Tatsache, daß Makrelen bei Helgoland mit Makrelenstücken gefischt werden, wobei sich die silberglänzende Bauchseite als Köder besonders gut eignet, zeigt, daß sie keine Schreckreaktion haben.

Cyprinoidea ergreifen bei Wahrnehmung eines Schreckstoffes die Flucht, oder sie suchen ein Versteck auf. Im Lebensraum der Sardinen gibt es kein Versteck. Ein Sardinenschwarm wandert in etwa 10 m Tiefe oder tiefer, d. h. daß die Entfernung sowohl zur Wasseroberfläche als auch zum Grund groß ist. Die zarten und leichtverletzlichen Fische könnten sich bei bewegter See auch nicht nahe der Wasseroberfläche aufhalten. Eine Schreckreaktion wäre also bei ihnen kaum biologisch sinnvoll.

Einige meiner Beobachtungen an diesen Fischen seien erwähnt: *Trachurus (Carangidae)* und Makrelen *(Scombridae)*, gewandt und schnell schwimmende Schwarmfische, kann man angeln und in großen Aquarien gut halten. Die Hauptschwierigkeit bei den Makrelen ist sie vom Fangplatz zum Aquarium zu transportieren. *Trachurus* wird in einem großen Aquarium rasch zahm, verweigert aber das Futter in zu kleinen Becken. Auffallend ist der starke Schwarmtrieb dieser Fische. Ein zu einem Schwarm gesetzter *Trachurus* oder Scombride oder Clupeide schwimmt mit dem Schwarm. Im Neapler Schauaquarium schwamm eine Makrele inmitten eines Schwarmes viel kleinerer Sardellen und Sardinen. Ein *Trachurus*, den ich zu einem Schwarm *Sparidae* setzte, schloß sich den langsam schwimmenden, viel kleineren Fischen an. Zwei gleichgroße *Trachurus* schwimmen zusammen und kümmern sich nicht um andere Fischarten oder wesentlich größere oder kleinere Artgenossen. Ein 5 cm großer *Trachurus* versuchte mit 25 cm langen Artgenossen zu schwimmen. Je länger die Fische im Aquarium eingewöhnt sind, desto lockerer ist der Verband. Diese Erscheinung beobachtete ich unter anderem an Sardinen-, Sardellen-, Hering- und *Trachurus*-Schwärmen. Sie hängt wohl mit dem Fehlen von Gefahren und den engen Aquariumverhältnissen zusammen. Bei Störung oder Gefahr ballt sich auch der eingewöhnte Schwarm. Unter normalen Umständen schwimmen die Fische zueinander parallel im Schwarm, wovon man sich durch Freilandbeobachtungen überzeugen kann.

Die Bildung riesiger Schwärme halte ich für den Nahrungserwerb für vorteilhaft. Das Gewinnen von Nahrung wird begünstigt, indem ein Schwarm von Tausenden und mehr Fischen eine größere Ausdehnung hat als Einzeltiere; stößt auch nur ein Teil des Schwarmes auf eine Ansammlung von Beutetieren, so wird er durch sein Verhalten die anderen aufmerksam machen und die günstige Gelegenheit wird gründlicher genutzt werden können als von Einzeltieren, die bald gesättigt wären.

b) Gesellig lebende Arten. *Sparidae.* Alle Schreckstoffversuche mit 10 verschiedenen Arten *Sparidae* in Neapel und Arcachon verliefen eindeutig negativ. Die *Sparidae* fraßen immer die vorgesetzte Haut ihrer Artgenossen. Sie fraßen auch tote Kameraden auf. Dabei wurden zuerst die Augen ausgepickt und dann der Bauch geöffnet. Häufig

wurden kranke oder geblendete Artgenossen, also Fische, die nicht wie die gesunden schwammen, angefallen und getötet. Verhältnismäßig friedlich sind *Sarpa* und *Oblada*, besonders angriffslustig gegen Artgenossen erwiesen sich *Diplodus*, *Charax*, *Cantharus* und *Pagellus*. — *Maenidae*. Zur Verfügung standen in Neapel 41 mit dem Plastikbeutel geschöpfte Fische der Art *Smaris vulgaris* C. V. Sie wurden in 7 Schwärme zu je 5—6 Tieren geteilt und in Aquarien zu je 20 Liter mit Durchlüftung gehalten. Alle Versuche zeigten, daß *Smaris*, ein friedlicher Schwarmfisch, keine Schreckreaktion auf Hautextrakt hat. Vergleiche dazu Protokollauszug S. 581. — *Mugilidae*. Junge, 3—8 cm lange *Mugilidae* lassen sich gut im Aquarium halten und werden schnell zahm. Gleich große Tiere schwimmen im Schwarm oder in kleineren Gruppen. Da *Mugilidae* Friedfische sind, die als Jungtiere in Neapel und Arcachon leicht beschafft werden konnten, wurden mit ihnen besonders viele Versuche durchgeführt. Alle Versuche endeten negativ. Zerkleinerte Artgenossen werden immer verspeist.

Statt auf die zahlreichen weiteren von mir untersuchten Meeresfische im einzelnen einzugehen, verweise ich auf Tabelle 3 (S. 604), in der sämtliche Versuche zusammengefaßt sind. Die *Meeresfische* sind in der Tabelle durch *Kursivdruck* gekennzeichnet.

II. Optisch ausgelöste Fluchtreaktionen

1. Sparidae. Da die *Sparidae* keinen Schreckstoff haben, untersuchte ich in Neapel ihr Verhalten einem größeren Raubfisch (*Serranus cabrilla* L.) gegenüber. *Diplodus div. spec.* und *Pagellus erythrinus* (L.) vermieden es, einem ruhig am Boden liegenden *Serranus* zu nahe zu kommen und flohen bei Verfolgung, wobei sie manchmal die Rückenflosse spreizten.

Um zu prüfen, ob dieses Fluchtverhalten optisch ausgelöst wird, wurden 2 Aquarien nebeneinander aufgestellt und in das eine ein 25 cm langer *Serranus*, in das andere ein *Pagellus*-Schwarm gesetzt. Konnte dieser den Raubfisch sehen, so hielten die Fischchen Abstand von ihm. Dabei steigerte sich ihre Schreckhaftigkeit, wenn der *Serranus* umherschwamm oder ein toter *Serranus* an einem Draht bewegt wurde. Geblendete *Pagellus* flohen nicht vor dem *Serranus*, auch wenn beide im selben Aquarium waren.

Wurde zu einem *Pagellus*-Schwarm ein *Serranus* gesetzt und gleichzeitig *Pagellus*-Hautextrakt eingegossen, so wurde das Verhalten der *Pagellus* nicht schreckhafter, als wenn nur ein *Serranus* in ihr Aquarium gesetzt wurde.

In einem Aquarium mit 5—9 cm großen *Sparidae* mehrerer Arten zeigte sich deutlich, daß die kleineren Fische einen größeren Abstand von einem 25 cm großen *Serranus* einhalten als die größeren, 5 cm lange *Sparidae* bewahrten einen Abstand von mindestens 25 cm, 8—9 cm lange *Sparidae* schwammen dagegen bis auf 5 cm an den *Serranus* heran. Wurde dieser Abstand unterschritten, so spreizten die

Sparidae ihre Rückenflosse. Daß das Spreizen der mit kräftigen Hartstrahlen versehenen Rückenflosse für ihren Besitzer von Vorteil sein kann, habe ich wiederholt beobachtet. Von vier verschlungenen *Diplodus* wurden drei von einem *Serranus* wieder ausgespuckt, nachdem sie diesen anscheinend mit den Hartstrahlen in den Gaumen gestochen hatten. *Maenidae* haben die gleiche, optisch ausgelöste Fluchtreaktion wie die *Sparidae*. Bei ihnen war die gespreizte Rückenflosse in 2 von 5 Fällen von lebensrettender Bedeutung.

R. HOAGLAND, D. MORRIS und N. TINBERGEN (1956) zeigen, daß die Hartstrahlen vom Stichling ihn weitgehend vor dem Gefressenwerden durch Hechte und Barsche schützen.

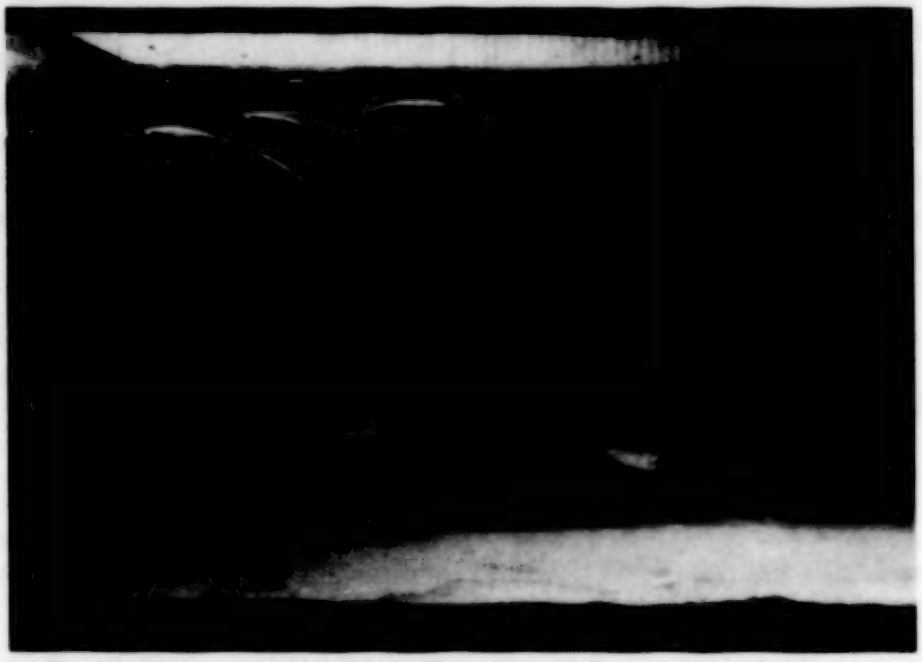


Abb. 1. Fluchtreaktion von *Mugil* zur Wasseroberfläche, ausgelöst durch einen kleinen *Torpedo*. Während *Mugil* eben zur Wasseroberfläche steigt, bleiben die *Atherina presbyter* CUV., denen diese Reaktion fehlt, in der Aquariummitte

Sparidae und *Maenidae* sind also durch eine optisch ausgelöste Fluchtreaktion in gewissem Grade vor dem Gefressenwerden durch größere Raubfische geschützt und bei Unterschreitung der Fluchtdistanz durch Spreizen der mit Hartstrahlen bewehrten Rückenflosse.

2. Mugilidae. Beim Tauchen im Golf von Neapel fiel mir eines Tages ein Schwarm junger *Mugil* auf, der sich bei meiner Annäherung an die Wasseroberfläche treiben ließ, wo sich die Fische ruhig verhielten und kaum zu sehen waren. Das gleiche Verhalten zeigten 3—7 cm große *Mugil chelo* CUV. im Aquarium, wenn ich einen größeren Fisch, etwa einen *Spariden* oder einen *Torpedo*, zu ihnen setzte (Abb. 1). Bei nicht eingewöhnten Tieren konnte das gleiche Verhalten manchmal schon durch Einschalten des Lichtes oder durch Annäherung an das Aquarium ausgelöst werden. Diese Art der Fluchtreaktion ist nicht starr festgelegt. Bei Annäherung von oben flieht *Mugil* nach unten.

Bei Verfolgung in einer Gezeiten-Lache, wie sie bei Ebbe oft entstehen, flitzen die Fische in alle Richtungen und verstecken sich unter Steinen. Aber bei Annäherung eines Feindes von unten, wie es unter natürlichen Verhältnissen die Regel ist, steigt *Mugil* ohne deutliche Flossenbewegung — anscheinend mit Hilfe der Schwimmblase — an die Wasseroberfläche und verharrt dort ruhig. Wenn ein Raubfisch einen *Mugil* aus der Mitte des Schwarmes packt, flitzen die anderen, an der Wasseroberfläche bleibend, in alle Richtungen, um sofort wieder bewegungslos zu verharren.

Eine ähnliche Fluchtreaktion an die Wasseroberfläche, aber ausgelöst durch Schreckstoff, hat F. Schutz (1955) für *Esomus lineatus* E. Ahl beschrieben. *Mugil* hat wie *Esomus* eine silberglänzende Unterseite und gestreifte Seiten. Der Silberglanz des Bauches und der Seiten ist eine gute Schutzfärbung (V. Franz 1907). Davon kann man sich beim Tauchen leicht überzeugen. Durch die Streifung der Flanken wird die Fläche aufgelöst.

III. Der Entstehungsort des Schreckstoffes in der Haut der Fische

1. Die Histologie der Fischhaut mit besonderer Berücksichtigung der Kolbenzellen

Um herauszufinden, wo in der Fischhaut der Schreckstoff gebildet wird, war es notwendig, die Haut möglichst vieler Fischarten aus verschiedenen Familien histologisch zu vergleichen.

Zur Gewinnung der Haut wurden die Fische durch Genickschnitt getötet. Kleine Fische wurden ganz, von größeren wurden nur Hautstückchen in die Fixierungsflüssigkeit gelegt. Es erwies sich als günstig, mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe die Luft zwischen den Schuppen zu entfernen. Alkoholgemische führten zu starken Schrumpfungen. Gute Dienste leisteten die Gemische „Romeis" und „Bouin", die ich hauptsächlich anwandte. Nach Fixierung mit anderen Gemischen wurde, wenn nötig, mit 6% Salpetersäure entkalkt. Eingebettet wurde in Paraffin. Die Schnittdicke betrug meistens 5 μ. Gefärbt wurde hauptsächlich mit Azan, das die Drüsenzellen besonders schön hervorhebt, und mit Hämatoxylin-Eosin.

Es zeigte sich, daß sich die Verbreitung des Schreckstoffes mit der Verbreitung einer bestimmten Art Kolbenzellen deckt.

F. Leydig (1851) beschreibt Zellen der Fischepidermis, die er „Schleimzellen" nennt, weil er die schlüpfrige Beschaffenheit der Haut von *Tinca*, *Anguilla*, *Lota* und *Cottus* auf sie zurückführt. Für die Schleie bezeichnet er sie als „feinkörnige" oder mit einem „ganz hellen Inhalt versehene Blasen". Von diesen Zellen unterscheidet Leydig „becherförmige, in die Oberhaut eingebettete und mit verschieden großer Öffnung auf derselben ausmündende Körper". A. Kölliker (1860) findet „zwei besondere Elemente" in der Epidermis von *Petromyzon* und nennt sie „Schleimzellen", im Sinne Leydigs, und „Körnerzellen". M. Schultze (1861) nennt die Schleimzellen von *Petromyzon* wegen ihrer kolbenförmigen Gestalt *Kolbenzellen*. Diesem Namenswechsel entsprechend, wurden von späteren Autoren auch die Schleimzellen (Leydigs) der „Echten Fische" *(Pisces)* „Kolbenzellen" genannt. M. Oxner (1905) bemerkt, daß sie sich bei den verschiedenen Fischen

erheblich in Form, Funktion und Entwicklung unterscheiden. E. PAWLOWSKY (1911) stellt fest, daß sie nicht bei allen Fischen eine ihrem Namen entsprechende Gestalt haben und weist auf eine irreguläre Gestalt bei *Anguilla*, *Silurus*, *Amiurus*, *Cyprinus* und *Lota* hin. Er behauptet, daß, wenn auch die äußere Gestalt dieser Zellen nicht immer der Bezeichnung „Kolben" entspricht, doch der Bau aller unter diesem Namen vereinigten Zellen derselbe ist. Als Charakteristik für die Kolbenzellen führt PAWLOWSKY die Lage des Zellkernes im Zentrum oder in der Achse auf, betont aber zugleich, daß in den Kolbenzellen von *Petromyzon* der Kern an der Peripherie der Zelle liegt. Also ist der Bau der unter dem Namen „Kolbenzellen" vereinigten Zellen nicht der gleiche! „Kolbenzellen" wurden von

Abb. 2. Epidermis einer 7 cm großen Elritze (*Phoxinus laevis* AG.). Romeis, Azan, 5 μ, Ph 40, Kpl 20

zahlreichen Autoren untersucht und beschrieben (s. Literaturverzeichnis). Laut M. OXNER (1905) gibt es Kolbenzellen bei *Petromyzon*, *Acanthopsidae*, *Cyprinidae*, *Apodes*, *Siluroidea* und *Gadidae*. Nach W. SCHNAKENBECK (1955) gibt es sie auch bei *Polypteridae*, *Ophidium* und *Fierasfer*.

Sowohl über die Verbreitung als auch über die Bedeutung der „Kolbenzellen" herrscht bis heute keine Klarheit (W. SCHNAKENBECK 1955). Deshalb will ich, ohne im einzelnen auf die häufig sehr auseinandergehenden Meinungen der älteren Autoren einzugehen, zuerst die verschiedenen Typen der „Kolbenzellen" an einigen Beispielen kurz beschreiben und anschließend ihre Unterschiede in einer Übersicht aufzeigen.

1. Elritze (Phoxinus laevis AG.*) (Cyprinidae).* Die Epidermis einer 7 cm langen Elritze (Abb. 2)[1] ist etwa 80—100 μ dick. Die ovalen

[1] Herrn Dr. J. O. NEDEL S. J. danke ich auch an dieser Stelle herzlich für seine wertvolle Hilfe bei der Anfertigung der Mikroaufnahmen.

„Kolbenzellen" sind etwa 40 μ hoch und 17 μ breit. Sie reichen weder bis zur Basis noch bis zur Oberfläche der Epidermis. Häufig beschränken sich die „Kolbenzellen" auf die unteren zwei Drittel der Epidermis, während im oberen Drittel vorwiegend Becherzellen liegen. Die rundlichen Becherzellen sind 20 μ im Durchmesser und scheiden den Hautschleim ab, der eine 10 μ dicke Schicht über der Epidermis bilden kann. Die Epidermisdicke nimmt, wie auch die Größe der „Kolbenzellen", mit der Fischgröße zu und kann an verschiedenen Körperstellen unterschiedlich sein. *Die „Kolbenzellen" haben keinen Ausführgang und*

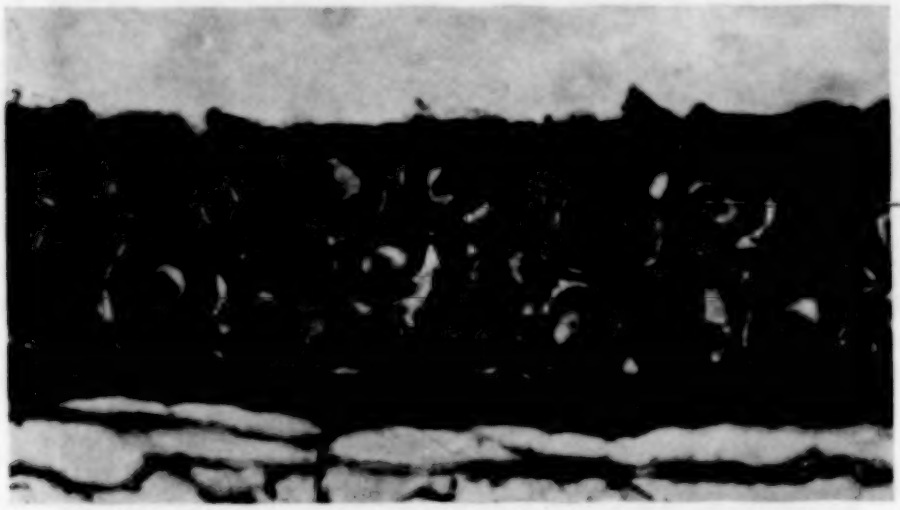


Abb. 3. Epidermis eines 35 mm großen *Tribolodon hakonensis taszanowskii* (STEINDACHNER). Bouin, HE, 5 μ, Ph 40, Kpl 20

werden nicht ausgestoßen. Ihr Kern liegt in der Mitte. Um den Kern ist ein heller Hof. Daran schließt sich der mit Azan, Hämatoxylin, Eosin, Toluidinblau und Safranin *färbbare Hauptinhalt.* Die älteren Autoren sind darüber, ob der nicht färbbare helle Hof der Cypriniden-„Kolbenzelle" oder der diesen umgebende Hauptinhalt das Sekret darstellt, verschiedener Meinung. F. MAURER (1895) faßt die Hauptmasse als Sekret auf, während J. NUSBAUM und W. KULZYCKI (1906), H. NORDQUIST (1908), E. PAWLOWSKY (1911) und H. v. LENGERKEN (1913) den hellen Hof für das Sekret und den Hauptinhalt für das Plasma halten. Dieser Meinung schließe ich mich auf Grund der Färbbarkeit des Hauptinhaltes an. Aber die Entscheidung darüber ist in diesem Zusammenhang nur von untergeordneter Bedeutung, wie wir später sehen werden.

2. Tribolodon (Syn. Leuciscus) hakonensis taszanowskii (STEINDACHNER). Die Epidermis dieses im Meer lebenden japanischen *Cypriniden* (Abb. 3) gleicht im wesentlichen der Epidermis der Elritze. Sie enthält mehrere Lagen rundlicher „Kolbenzellen".

3. Blinder Höhlensalmler (Anoptichthys jordani HUBBS und INNES*) (Characidae).* Die etwa 100 μ dicke Epidermis eines 5 cm langen

Fisches enthält mehrere Lagen 15 μ großer rundlicher „Kolbenzellen". Becherzellen sind selten und klein.

Die Epidermis der anderen untersuchten *Characiden (Hemigrammus)* ist dünn und enthält nur wenige, 10 μ hohe und 15 μ breite „Kolbenzellen", die im Bau denen der Elritze gleichen.

Abb. 4. Epidermis eines Zwergwelses, *Amiurus nebulosus* (LESEUR). Romeis, Azan, 5 μ, Ph 40, Kpl 20

Abb. 5. Rumpfepidermis vom indischen Glaswels, *Cryptopterus bicirrhis* (CUV. und VAL.). Bouin, Azan, 5 μ, Ph 40, Kpl 20. Beachte die zahlreichen, großen „Kolbenzellen"!

4. Zwergwels (Amiurus nebulosus LESEUR*) (Amiuridae).* In der 55—75 μ dicken Epidermis eines 5 cm langen Zwergwelses sind die rundlichen „Kolbenzellen" etwa 35 μ im Durchmesser. Sie haben meistens einen Doppelkern. Die Becherzellen haben einen Durchmesser von 18 μ (Abb. 4).

5. Panzerwels (Corydoras palaeatus JENYNS*) (Callichthydae).* Die Epidermis eines 5 cm großen Panzerwelses ist 75 μ dick. Die „Kolbenzellen" sind 20—35 μ hoch und 13 μ breit. Die Epidermis fällt durch 2 Arten Becherzellen auf, nämlich 20 × 40 μ große mit körnigem Inhalt, der sich mit Azan rot färbt, und 4 × 10 μ kleine mit einem, mit Azan blau gefärbten, strukturierten Inhalt. Das Gesamtvolumen der „Kolbenzellen" bildet nur einen geringen Teil des Gesamtvolumens der Epidermis, da die „Kolbenzellen" verhältnismäßig klein und selten sind.

6. Indischer Glaswels (Cryptopterus bicirrhis CUV. und VAL.*) (Siluridae).* Die Epidermis eines 7 cm langen Glaswelses ist 80 μ dick. Die rundlichen „Kolbenzellen" haben etwa 30 μ Durchmesser, sind sehr zahlreich, liegen in 2—3 Schichten übereinander und bilden die Hauptmasse der Epidermis (Abb. 5). Meistens haben sie nur einen Kern. Becherzellen sind selten und nur 7 μ groß.

Außer den hier aufgeführten *Ostariophysi* wurden weitere 24 Arten derselben in bezug auf „Kolbenzellen" untersucht. Sie gehen aus Tabelle 3 (S. 604) hervor.. *Zusammenfassend läßt sich für die „Kolbenzellen" der Ostariophysi* (*Gymnotidae* nicht untersucht!) *sagen:*

Der Bau der „Kolbenzellen" aller untersuchten *Cyprinidae, Characidae, Cobitidae* und *Siluroidea* weicht nicht grundsätzlich von dem für die Elritze beschriebenen Bau ab. Die „Kolbenzellen" sind bei den *Ostariophysi* allgemein verbreitet. Ihre Häufigkeit kann von Art zu Art schwanken. Sie können in einer oder mehreren Lagen vorkommen. Die „Kolbenzellen" sind über den Körper gleichmäßig verteilt. Nur auf den Fischbarteln sind sie sehr selten und klein (Abb. 6). Sie reichen weder bis an die Basis noch bis an die Oberfläche der Epidermis, haben keine Ausmündung und werden auch nicht ausgestoßen bzw. abgerieben. Ihre Form ist nie kolbenartig, sondern oval bis rundlich. Sie haben einen Kern oder einen Doppelkern, der immer in der Mitte der Zelle liegt und von einem hellen Hof umgeben ist.

7. Fierasfer (Syn. Carapus) acus BRÜNN *(Heteromi).* Die Epidermis eines 15 cm langen *Fierasfer* ist durchschnittlich 60—120 μ dick (Abb. 7—11). Die Haut ist ohne Schuppen und sehr schleimig, was wohl mit der Lebensweise dieses Fisches zusammenhängt. Auffallend sind beim ersten Anblick 2 Formen großer Zellen: Die eine Form liegt oberflächlich und mündet nach außen. Ihr ganzer, grob strukturierter Inhalt färbt sich mit Hämatoxylin stark an, so daß der Kern, der zentral liegt, nur selten zu sehen ist. Es handelt sich um Becherzellen, die ihren ganzen Inhalt nach außen entleeren. Sie sind rundlich und haben einen Durchmesser von 20—30 μ. Die andere Form liegt tiefer in der Epidermis und gleicht ihrem Bau nach sehr der „Kolbenzelle" der Elritze. Um den zentralen Kern ist ein heller Hof, der von der sich homogen anfärbenden Hauptmasse umgeben ist. Diese Zellen

haben keine Ausmündung und sind meistens 30—45 μ hoch und 20 bis 30 μ breit. Bei genauerer Beobachtung findet man alle Zwischenformen

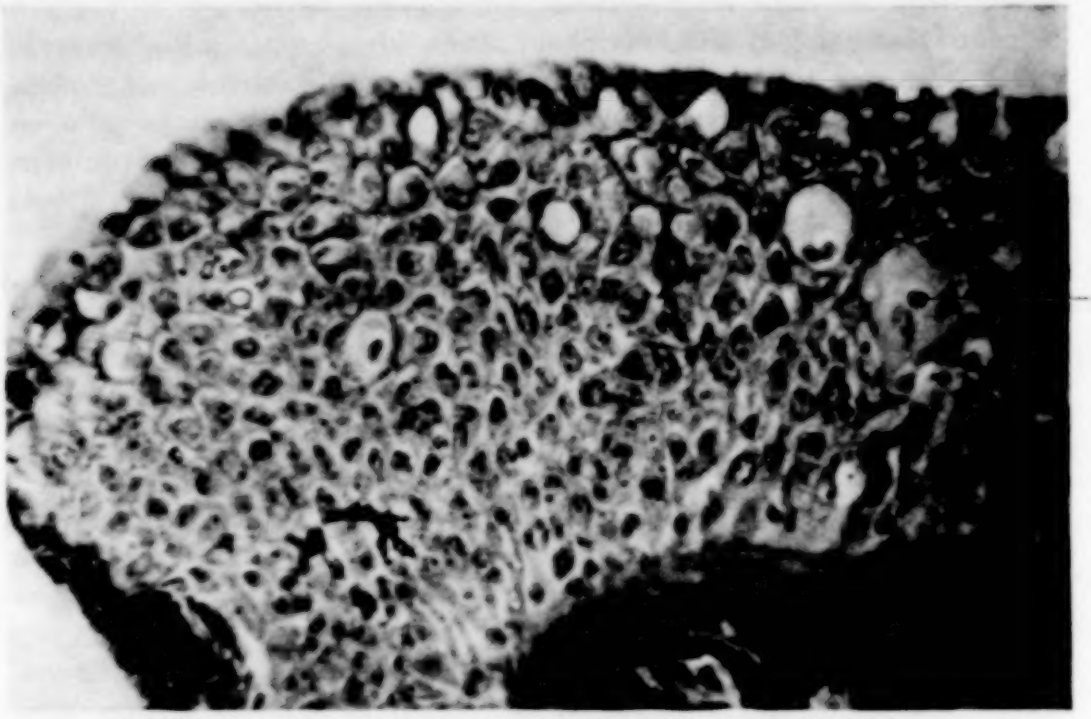


Abb. 6. Bartelepidermis vom indischen Glaswels, *Cryptopterus bicirrhis* (CUV. und VAL.). Die „Kolbenzellen" fehlen fast ganz und sind sehr klein! Bouin, Azan, 5 μ, Ph 40, Kpl 20

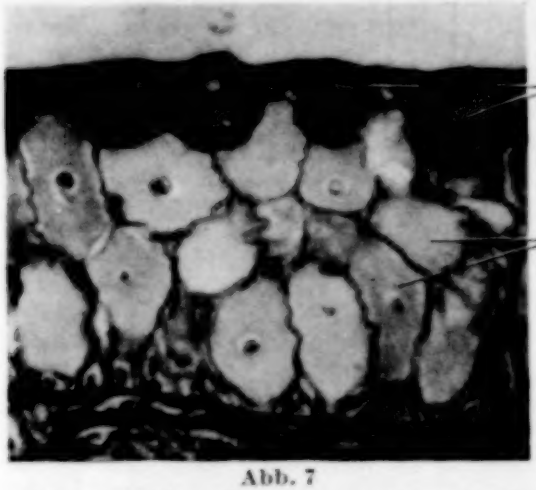


Abb. 7

Abb. 7. Epidermis von einem 15 cm langen Fierasfer (*Syn. Carapus*) *acus* BRUNN. Bouin, HE, 5 μ, Ph 40, Kpl 12,5. Übersicht. *1* Becherzellen, *2* „Kolbenzellen"

Abb. 8

Abb. 8. Fierasfer (wie Abb. 7). Ph Öl 100, Kpl 12,5. Becherzellen und beginnende Sekretbildung in den „Kolbenzellen" (= junge Becherzellen.) *1* entleerte Becherzellen, *2* Sekret

zwischen den beiden genannten Typen. Es finden sich kolbenzellenähnliche Zellen, deren Inhalt teilweise oder ganz strukturiert ist, und

Becherzellen, deren Inhalt fein strukturiert ist (Abb. 8 und 9). Es entwickeln sich die kolbenzellenähnlichen Zellen zu Becherzellen. Das wird noch deutlicher, wenn man die Epidermis von *Fierasfer* mit der eines Cypriniden oder Siluriden vergleicht. Bei Cypriniden handelt es sich wirklich um zwei verschiedene Zellarten: „Kolbenzellen" und

Abb. 9. Fierasfer (wie Abb. 7). Ph Öl 100, Kpl 12,5. „Kolbenzelle" mit Doppelkern und Sekretbildung

Abb. 10. Fierasfer (wie Abb. 7). Ph Öl 100, Kpl 12,5. Fortgeschrittene Sekretbildung

Becherzellen. Von beiden Zellarten lassen sich Entwicklungsreihen zeigen. Man findet bei den Cypriniden tief in der Epidermis, teilweise schon unter den „Kolbenzellen", junge Becherzellen, die noch keinen Ausführgang haben. Ähnliche Zellen fehlen bei *Fierasfer*. Die Epidermis von *Fierasfer* ist sehr reich an Becherzellen, die sich entleeren und die dauernd ersetzt werden müssen. Zwischen diesen Becherzellen und unter ihnen liegen ihre Jugendformen, die im histologischen Bild den „Kolbenzellen" der *Ostariophysi* ähnlich sehen."

8. Flösselhecht (Polypterus spec.) (Polypteridae). Über den kräftigen Schuppen liegt eine 100—200 μ dicke Epidermis. Den „Kolbenzellen" der *Ostariophysi* ähnliche Zellen sind häufig. Sie sind 20 μ breit und

10 μ hoch. Der Kern liegt zentral. Das Plasma färbt sich mit Azan homogen an. 8—12 Schichten dieser Zellen liegen in der Epidermis übereinander und grenzen an deren Basis und Oberfläche, wo sie abgerieben werden.

9. Motella tricirrata BL. *(Gadidae).* Die Epidermis eines 9 cm langen Exemplares dieses *Gadiden* ist 60 μ dick und besteht aus etwa 12 Zellschichten (Abb. 12). Die „Kolbenzellen" sind 7—10 μ hoch. Sie sind durch 2—3 Schichten Epithelzellen von der Oberfläche getrennt und münden dort mit einem schlauchförmigen Fortsatz. Ihr Kern liegt

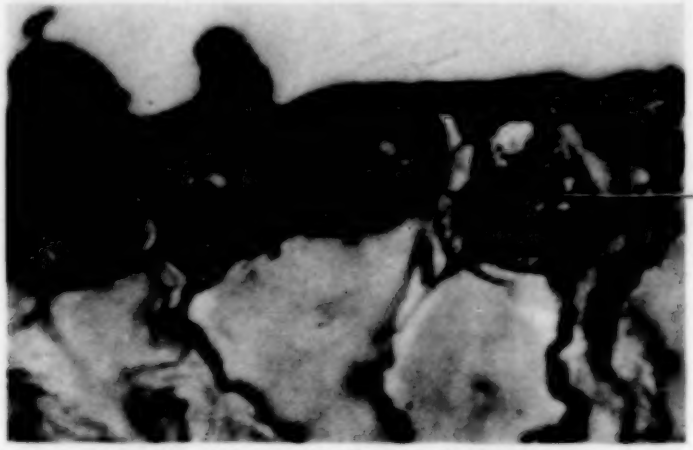


Abb. 11. Fierasfer (wie Abb. 7). Ph Öl 100, Kpl 12,5. Junge Becherzelle

basal. Die Becherzellen sind 25 μ hoch und haben einen schmalen Ausführgang. Die „Kolbenzellen" tragen offensichtlich zur Verschleimung der Epidermis bei.

Dem Dorsch *(Gadus morrhua* L.*)* fehlen „Kolbenzellen".

10. Aal (Anguilla anguilla L.*) (Apodes).* Die Epidermis eines 25 cm langen Aales (Abb. 13) ist etwa 220 μ dick. Die Hauptmasse der Epidermis bilden die schmalen, langen „Kolbenzellen". Sie sind bis 150 μ hoch, an der Basis 8—11 und an dem der Oberfläche zugewandten Ende bis 25 μ breit. Diese „Kolbenzellen" geben, wie die etwa 30 μ großen Becherzellen, ihren Inhalt nach außen ab bzw. werden abgestoßen und bilden den größten Teil des Hautschleimes. F. LEYDIG (1851) berichtet sehr richtig: „Beim Aal gibt es helle und feinkörnige Schleimzellen." „In einem gewissen Stadium ihres Wachstums mögen sie wohl platzen und ihren Inhalt nach außen entleeren." Die Epidermiszellen sind 5—7 μ groß. Die meisten „Kolbenzellen" sitzen mit dem schlanken Stiel der Basis der Epidermis auf. Bei denen des oberen Drittels der Epidermis läßt sich oft kein Stiel feststellen. Sie erscheinen mehr kugelig. Der Kern der „Kolbenzellen" liegt im Zentrum des oberen verdickten Endes. Die „Kolbenzellen" haben zwei verschiedene Inhalte. Der eine liegt in Form einer Kugel dem Kern an einer Seite an und färbt sich bei jüngeren „Kolbenzellen" mit Azan kräftig blau,

Abb. 12. Epidermis von *Motella tricirrata* Bl. *(Gadidae)*. Bouin, Azan, 5 μ, Ph Öl 100, Kpl 12,5

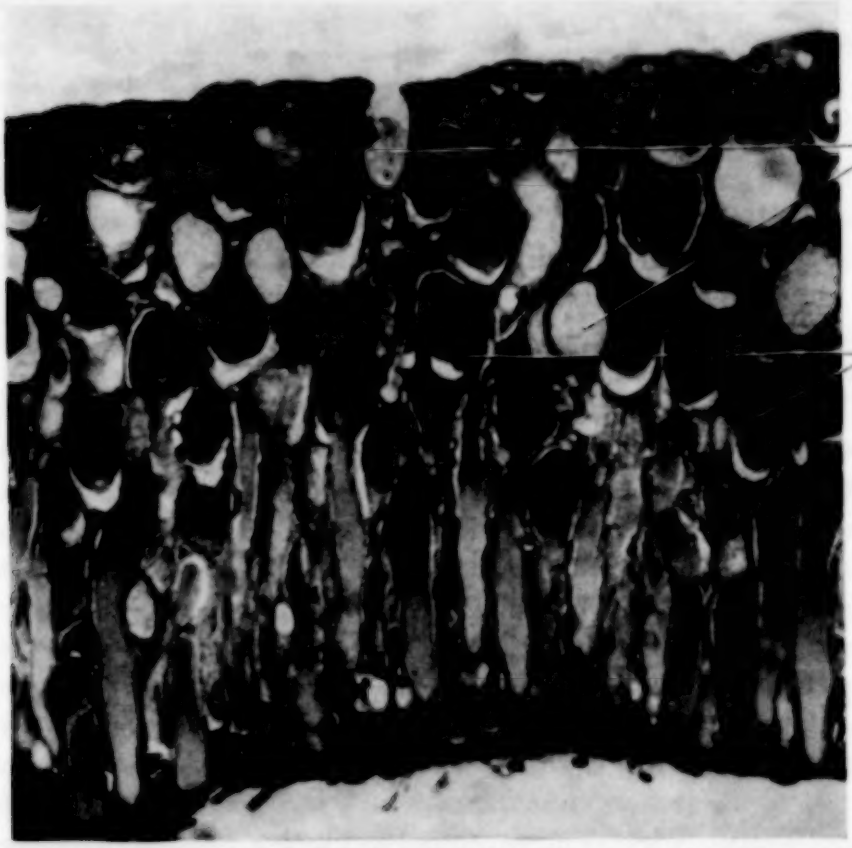


Abb. 13. Epidermis eines 25 cm langen Aales (*Anguilla anguilla* L.). Bouin, Azan, 5 μ, Ph 40, Kpl 12,5

bei älteren rotlila und ist dann gekörnt; der andere Inhalt umgibt den ersteren und bildet auch den Stiel und färbt sich bei jüngeren Zellen hellblau, bei älteren im Bereich des verdickten Endes rot.

11. Flußneunauge (Petromyzon fluviatilis L.*) (Petromyzontidae).* Die Epidermis eines 14 cm langen Neunauges ist 80 μ dick (Abb. 14). Die „Kolbenzellen" sind 35 μ hoch und sitzen der Basis der Epidermis auf. Sie bestehen aus einem zentralen Plasmastrang, der durch die Längsachse der Zelle zieht und in dessen oberem Teil der Zellkern liegt, und aus einem peripheren Mantel, der sich mit Azan lila, an seiner distalen

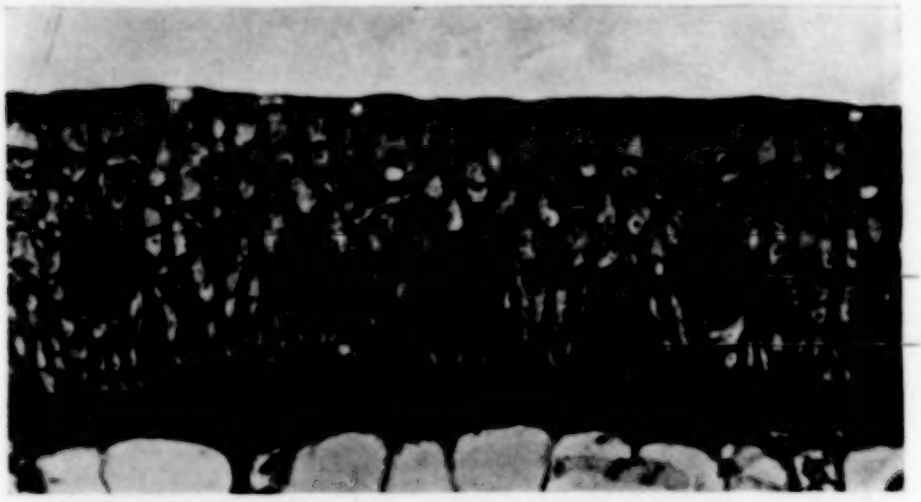


Abb. 14. Epidermis vom Flußneunauge (*Petromyzon fluviatilis* L.). Romeis, Azan, 5 μ, Ph 40, Kpl 12,5

und basalen Peripherie rot anfärbt. Bei den Körnerzellen liegt der Kern zentral. Ihr Körper „sieht so aus, wie wenn er, abgesehen von dem kleinen, aber nicht immer deutlichen Zellkern, ganz und gar mit feinen dunkleren Körnchen erfüllt wäre" (A. KÖLLIKER 1860). Mit Azan werden die Körnchen rot, der übrige Inhalt hellblau gefärbt. Die Körnerzellen sind ebenso groß wie die „Kolbenzellen", reichen aber nie bis an die Basis der Epidermis, sondern sind von ihr immer durch eine oder zwei Zellschichten getrennt. Die Epidermiszellen werden zur Hautoberfläche hin größer als die Basalzellen. Während der Kern bei den Basalzellen oben liegt (wie bei den „Kolbenzellen"!), liegt er bei den nächsthöheren Schichten ziemlich in der Mitte (wie bei den Körnerzellen!) und bei den der Oberfläche genäherten Epidermiszellen unten. — Auf Grund der Lage der Körnerzellen zu den „Kolbenzellen" sowie einiger Zwischenstufen zwischen beiden Zellformen und auf Grund der Lageverhältnisse des Zellkerns sowie der färberischen Eigenschaften des peripheren Mantels der „Kolbenzellen", der sich wie die Körner der Körnerzellen färbt, kann man annehmen, daß es sich bei „Kolben"- und Körnerzellen nicht um verschiedene Zellen handelt, sondern um verschiedene Entwicklungsstufen eines Zelltypes.

Den übrigen untersuchten Familien fehlen „Kolbenzellen" oder kolbenzellenähnliche Zellen. Es wurden die Häute nahezu aller bisher auf Schreckstoff untersuchten und vieler anderer Arten histologisch geprüft. Es zeigt sich also, daß unter dem Namen „Kolbenzellen" bisher verschiedenartige Drüsenzellen zusammengefaßt wurden. Die als „Kolbenzellen" bezeichneten Drüsenzellen in der Epidermis der

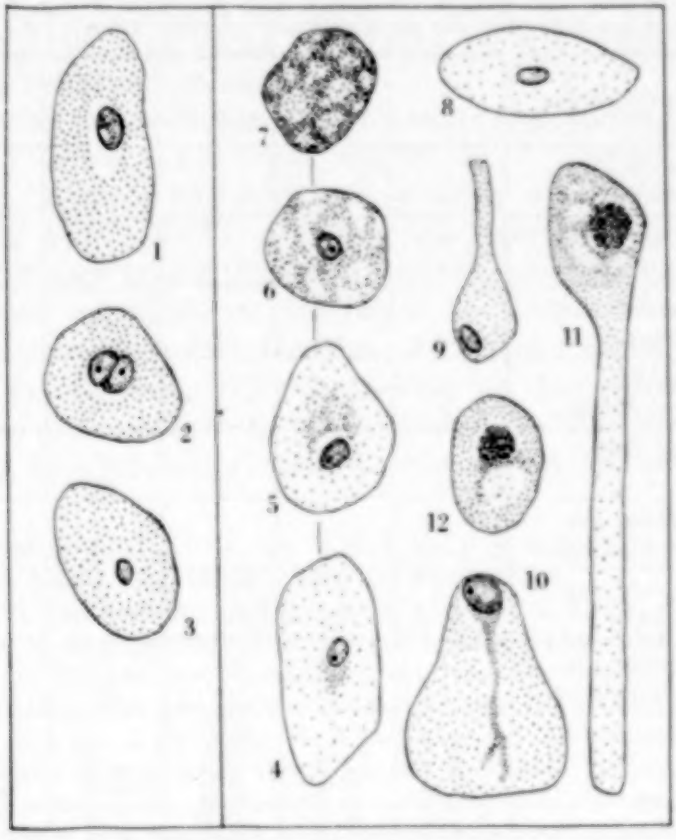


Abb. 15. Schematischer Überblick über die verschiedenen „Kolbenzellen". *1—3* sind Schreckstoffzellen von 1. Phoxinus, 2. Amiurus, 3. Cryptopterus. *4* mit *7* zeigt die Entwicklung der Becherzellen von Fierasfer. *8* ist eine Schleimzelle von Polypterus, *9* ist eine Schleimzelle von Motella, *10* ist eine Kolbenzelle von Petromyzon, *11* und *12* sind Schleimzellen von Anguilla

Ostariophysen sind nicht kolbenförmig und sind funktionell verschieden von den kolbenförmigen Zellen bei *Petromyzon*, die M. SCHULTZE (1861) zu der Namengebung veranlaßt haben. *Die „Kolbenzellen" der Ostariophysen unterscheiden sich von den „Kolbenzellen" aller anderen untersuchten Fische durch die oben beschriebenen und in der Übersicht* (S. 598; vgl. auch Abb. 15) *zusammengefaßten Merkmale. Ihre Verbreitung deckt sich mit dem Vorkommen des Schreckstoffes.* Bei allen bisher untersuchten Arten mit Schreckstoff konnte dieser Typ von „Kolbenzellen" nachgewiesen werden, bei keiner Fischart ohne Schreckstoff wurde er gefunden. Daß diese Drüsenzellen nicht zur Oberfläche aufrücken und ihr Sekret nicht nach außen entleeren, harmoniert mit der Tatsache,

daß der Schreckstoff nur bei Hautverletzung frei wird. Ihre gleichmäßige Verteilung über den Fischkörper paßt zu dem Befund, daß die Haut in allen Körperregionen gleich wirksam ist (K. v. FRISCH 1941 für Elritzen). Im folgenden Abschnitt wird noch gezeigt, daß gewisse Hautstellen der Ostariophysen, die keine oder nur wenige „Kolbenzellen" enthalten, auch keinen oder nur wenig Schreckstoff liefern.

Übersicht über die verschiedenen „Kolbenzellen" (K)

K reicht bis an die Basis der Epidermis	−	−	+	−	+	+
K reicht bis an die Oberfläche der Epidermis. .	−	−	+	+	+	−
K ist Vorstufe der Becherzelle	−	+	−	−	−	−
K oval oder rundlich, nicht kolbenförmig . .	+	+	+	−	−	−
Kern immer zentral, nie an Zellperipherie . .	+	+	+	−	−	−
Hauptinhalt der Zelle homogen	+	+	+	+	−	−
Höhe von K größer als $^1/_2$ der Epidermisdicke .	−	−	−	−	+	−
Höhe von K $^1/_2$—$^1/_4$ der Epidermisdicke	+	+	−	−	−	+
Höhe von K kleiner als $^1/_4$ der Epidermisdicke .	−	−	+	+	−	−
Fischart	Elritze und andere *Ostariophysi*	*Fierasfer (Carapus)*	*Polypterus (Polypteridae)*	*Motella (Gadidae)*	*Anguilla* (Aal)	*Petromyzon* (Neunauge)

Aus all diesen Gründen sehe ich in den *„Kolbenzellen" der Ostariophysen die Erzeuger des Schreckstoffes.* Zur Unterscheidung von den schleimliefernden, nur beim Aal kolbenförmigen Zellen anderer Fischarten schlage ich für sie den Namen *„Schreckstoffzellen"* vor, während die übrigen als „Schleimzellen" (LEYDIG 1851) bezeichnet werden sollten, mit Ausnahme der „Kolbenzellen" von *Petromyzon*, für die allein man — entsprechend ihrer Gestalt — den Namen „Kolbenzellen" (SCHULTZE 1861) beibehalten sollte.

2. Kontrollversuche mit Fischbarteln

Der histologische Befund, daß Bartelepidermis der *Ostariophysi* nur wenige kleine „Kolbenzellen" enthält, gab Anlaß zu einem wesentlichen Kontrollversuch: Wenn diese Zellen den Schreckstoff liefern,

müßte Bartelhaut weniger wirksam sein als Rumpfhaut. Tatsächlich ergab sich, daß die Epidermis der Barteln (Abb. 6) im Gegensatz zu einer vergleichbaren Menge Epidermis vom Rumpf (Abb. 5) keine Schreckreaktion auslöst.

Um die Wirksamkeit der Bartelepidermis mit der Wirksamkeit der Rumpfepidermis vergleichen zu können, war es wichtig, zur Bereitung des Extraktes gleiche Mengen Haut zu verwenden. Dabei wurde darauf geachtet, daß die Volumina der Epidermis und die gesamte Fläche der Querschnitte gleich groß waren. Die Dicke der Epidermis wurde vorher an gefärbten Schnitten gemessen.

a) Versuche mit indischen Glaswelsen (Cryptopterus bicirrhis Cuv. und Val.) Vierzehn Individuen wurden in 2 Gruppen geteilt und ab 18. 11. 58 in einem 25-Liter- und in einem 40-Liter-Aquarium mit Durchlüftung bei 23—26° C gehalten. Sie gewöhnten sich rasch ein. Da sie abends ihre größte Aktivität zeigten, wurden die Versuche zu dieser Tageszeit durchgeführt. Mit jedem der beiden Schwärme wurden im Abstand von mehreren Monaten 2 Versuche durchgeführt. Alle 4 Versuche endeten ohne Schreckreaktion auf Bartelextrakt und mit einer starken Schreckreaktion auf Extrakt von Rumpfhaut. Durchführung und Ergebnis eines dieser Versuche zeigt folgender Protokollauszug:

Kontrollfütterung am 9. 1. 59: 6, 6, 6, 6; 6, 5, 6, 5; 5, 5, 5, 6; 6, 4, 5, 4; 4, 5, 5, 6. Alle fressen und bleiben ruhig am Futterplatz.

Versuch mit Bartelextrakt am 14. 1. 59: 6, 4, 5, 5; 6, 6, 5, 6; 5, 6, 6, 5; 6, 4, 5, 4; 4, 5, 5, 6. Alle fressen und verhalten sich wie bei der Kontrollfütterung.

Versuch mit Extrakt von Rumpfhaut am 21. 1. 59: Schon 10 sec nach Eingießen des Extraktes ist der nächste Fisch sehr beunruhigt und schwimmt weg. Nach 20 sec sind alle 6 Glaswelse in der dunkelsten Aquariumecke dicht über dem Boden. Eine Minute nach Eingießen des Extraktes bleiben alle Fische bei der Fütterung in der Ecke am Boden. 10 min nach dem Füttern sind sie noch in der dunklen Ecke und reagieren bei Geräuschen durch schnelles Schwimmen. Fünf Stunden nach dem Versuch haben sich die Glaswelse noch immer nicht beruhigt.

b) Versuche mit Elritzen (Phoxinus laevis Ag.). Elritzenschwärme wurden mit Bartel- bzw. Rumpfhaut vom Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) und vom Wels (*Silurus glanis* L.) geprüft. Die Versuche endeten auf Karpfen- und Welsbarteln ohne Reaktion, auf Rumpfhaut vom Karpfen und Wels mit einer Schreckreaktion.

Versuch Nr.		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zahl der Elritzen		12	12	12	20	60	20	10	10	100
Reaktion auf Rumpfhaut vom	Karpfen	+	+	+	+	+				
	Wels						+	+—	+	(+)
Barteln vom	Karpfen	—	—	—	—	—				
	Wels						—	—	—	—

3. Versuche über die Schreckreaktion bei Poecilidae

Bei 2 Arten aus der Familie *Poecilidae* konnte F. SCHUTZ (1956) keine Schreckreaktion nachweisen, bei zwei anderen Arten fand er bei männlichen Tieren gleichfalls keine Schreckreaktion, wohl aber reagierten weibliche Tiere, und zwar sowohl auf die Haut von Weibchen wie auf solche von Männchen. Da keine Schreckstoffzellen vorhanden sind, schien dies mit der allgemeinen Verbreitung dieser Drüsenzellen bei Fischen mit Schreckreaktion in Widerspruch zu stehen. Jedoch hatte F. SCHUTZ an Poeciliden nur wenige, nicht eindeutige Versuche durchgeführt. Daher war es notwendig, sie zu überprüfen. F. SCHUTZ hatte folgende *Poecilidae* untersucht: *Platypoecilus variatus* MEEK, *Platypoecilus maculatus* GÜNTHER, *Heterandria formosa* AGASSIZ und *Lebistes reticulatus* PETERS. Mit positivem Ergebnis endigten bei *Heterandria* von 11 Versuchen nur 6 bei einem 1/5n-Extrakt und bei *Lebistes* von 13 Versuchen nur 6 bei einem sehr starken Extrakt von 1—3 n.

Meine Versuche mit *Lebistes reticulatus* PETERS verliefen dagegen alle negativ. Vierzehn Schwärme zu je 3 Fischen, davon 9 Schwärme Weibchen und 5 Schwärme Männchen, wurden in 10-Liter-Aquarien mit 1n-Extrakt geprüft. Weitere 6 Versuche an gemischten Schwärmen zu je 6—11 Fischen verliefen mit 1—3n-Extrakt ebenfalls negativ. *Lebistes* reagiert auch nicht auf 1n-Extrakt der Elritze. Umgekehrt wurden 3 Elritzenschwärme durch 1n-Extrakt von *Lebistes*-Weibchen nicht verschreckt. Anschließend auf ihre Reaktionsbereitschaft geprüft, erschraken diese Elritzen auf 1/10n-Elritzen-Extrakt sehr heftig. Die negativen Ergebnisse bei so starken Extrakten sprechen gegen eine Schreckreaktion der *Poecilidae*. Zu den 50% positiven Ergebnissen von F. SCHUTZ ist zu bemerken, daß sie nur bei starken Extrakten auftraten und als unspezifische Fluchtreaktion gedeutet werden können, ähnlich wie das beim Aal (F. SCHUTZ 1956) oder beim amerikanischen Lachs (J. R. BRETT und D. MACKINNON 1954) der Fall ist.

4. Die Histologie der Fischepidermis in Zusammenhang mit der Lebensweise der Fische

Man kann in der Epidermis der Fische im wesentlichen drei verschiedene Zellformen unterscheiden: Epithel-, Becher- und Kolbenzellen (S. KANN 1927).

S. KANN (1927) stellt biologische Typen nach dem Bau des Oberhautepithels fest und unterscheidet nach dem durch Abwehr- und Schutzfunktion bedingten Aufbau 2 Haupttypen. Fischen, die dem

einen Typ angehören, dient als Abwehrmittel gegen größere Feinde und Festsetzen kleiner Parasiten ausschließlich ihre Schlüpfrigkeit und Schleimschicht. Fische, die dem zweiten Typ angehören, haben als Abwehrvorrichtung Hartgebilde der Haut.

Diese Auffassung scheint mir nur teilweise zutreffend. Richtiger scheint mir, nach der Lebensweise Boden- und Freiwasserfische zu unterscheiden. Dabei zeigt sich, daß Bodenfische, hauptsächlich soweit sie eine unter Steinen oder im Sand verborgene Lebensweise führen (wie z. B. *Motella*, *Lepadogaster*, *Conger*, *Callionymus*, *Amiurus* u. a.), weit mehr schleimbildende Becherzellen haben als Freiwasserfische (wie z. B. *Gasterosteus*, *Esox*, *Clupeidae*, *Cyprinidae* u. a.). Besonders deutlich wird die Zunahme der Becherzellen in Zusammenhang mit der Anpassung an eine besondere Lebensweise (*Anguilla*, *Fierasfer*). Bodenfische mit einer drüsenarmen Epidermis benötigen ein kräftigeres Schuppenkleid. Hochseefische haben weder kräftige Schuppen noch viele Schleim- oder Becherzellen.

Die Fische, für die in der Literatur „Kolbenzellen" beschrieben sind (*Lota*, *Anguilla*, *Fierasfer*; *Polypterus*, *Ostariophysi*), sind mit Ausnahme der meisten *Ostariophysi* Bodenfische, und diese „Kolbenzellen" dienen der Schleimabsonderung im Gegensatz zu den „Kolbenzellen" (= Schreckstoffzellen) der *Ostariophysi*.

IV. Ist die Schreckreaktion an das Leben im Süßwasser gebunden? Versuche mit einem japanischen Meercscypriniden

Nachdem sich gezeigt hat, daß die Schreckreaktion bei *Cyprinoidea* (*Cyprinidae*, *Characidae*, *Cobitidae*) und *Siluroidea* (*Siluridae*, *Amiuridae*, *Callichthydae*) weitverbreitet ist, während sie allen anderen geprüften Fischen fehlt, entstand die Frage, ob sie an das Leben im Süßwasser gebunden ist, denn die *Ostariophysi* sind fast ausnahmslos Süßwasserfische, oder ob die Schreckreaktion auch im Meer vorkommt, ob auch Seewasser-Ostariophysen eine Schreckreaktion haben.

Die Beantwortung dieser Frage erschien zunächst recht schwierig, da es in europäischen Meeren keine *Ostariophysi* gibt. Durch eine Reihe glücklicher Umstände wurde ich auf eine japanische Cyprinidenart aufmerksam, die in 2 Unterarten vorkommt, deren eine, *Tribolodon hakonensis hakonensis* (Günther), ständig im Süßwasser, deren andere, *Tribolodon hakonensis taszanowskii* (Steindachner), dagegen im Brack- und Meerwasser lebt und nur zur Fortpflanzung in die Flüsse steigt, wo sich im Süßwasser die Jungfische entwickeln. Diese können erst dauernd im Seewasser leben, wenn sie mindestens 35 mm lang sind (M. Nakamura und M. Yaeko 1953).

Am 28. 6. 59 bekam ich von Herrn Dr. M. NAKAMURA[1], Tokyo, je 80 Stück 12—14 mm lange Jungfische beider Unterarten. Die Seewasserform war durch künstliche Befruchtung gezüchtet, die Süßwasserform von Dr. M. NAKAMURA gefangen worden. Die zu je 20—30 Stück in Plastikbeuteln versandten Fische kamen nach der zweitägigen Flugreise von Tokyo über den Nordpol alle gut in München an. Es war von Bedeutung, daß auf der Reise keine Fische eingehen, um eine

Tabelle 1. *Übersicht über einige von mir durchgeführte Versuche mit Süßwasserfischen*

Die Versuche über die Wirkung von Bartelextrakt und alle Versuche mit den japanischen Süß- und Seewasser-*Cyprinidae* sind in dieser Übersicht nicht enthalten (vgl. Tabelle 2). Zur besseren Übersicht habe ich in dieser Tabelle nur zwischen positiver (+) und negativer (—) Reaktion unterschieden.

Schwarm von	Hautextrakt von	Wirkung	Versuche	Schwärme
Elritze	Elritze (*Phoxinus laevis* AG.)	+	14	14
Elritze	Karpfen (*Cyprinus carpio* L.)	+	2	2
Elritze	*Hemigrammus caudovittatus*	+	1	1
Elritze	Glaswels (*Cryptopterus bicirrhis* CUV. u. VAL.)	—	2	1
Elritze	Flußbarsch (*Perca fluviatilis* L.)	—	2	2
Elritze	*Lebistes reticulatus* PETERS	—	2	2
Elritze	Neunauge (*Petromyzon fluviatilis* L.)	—	2	2
Neunauge . . .	Elritze	—	2	2
Neunauge . . .	Neunauge	—	3	3
Karpfen	Karpfen	+	6	6
Karpfen	Elritze	+	2	2
Karpfen	Zwergwels (*Amiurus nebulosus* LESEUR)	+	2	2
Karpfen	Glaswels	—	1	1
Zwergwels . . .	Zwergwels	+	4	4
Zwergwels . . .	Karpfen	+	2	2
Zwergwels . . .	Glaswels	—	2	2
Glaswels	Glaswels	+	4	2
Glaswels	Zwergwels	—	2	2
Glaswels	Elritze	—	1	1
Glaswels	Karpfen	—	1	1
Lebistes ♂ . . .	Lebistes ♂ und ♀	—	5	5
Lebistes ♀ . . .	Lebistes ♂	—	3	3
Lebistes ♀ . . .	Lebistes ♀	—	6	6
Lebistes ♂ und ♀	Lebistes ♂ und ♀	—	6	6
Lebistes ♂ und ♀	Elritze	—	3	3

[1] Ich möchte Herrn Dr. M. NAKAMURA für seine wertvolle Hilfe auch an dieser Stelle herzlich danken.

mögliche vorzeitige Abstumpfung zu vermeiden. Nach der Ankunft wurden die Fischchen auf mehrere Aquarien verteilt und mit *Daphnia*, zerriebenen *Tubifex* und Trockenfutter im veralgten Aquarium gefüttert.

Tabelle 2. *Die 1959 mit Tribolodon hakonensis taszanowskii* (STEINDACHNER) *(Seewasserform) und Tribolodon hakonensis hakonensis* (GÜNTHER) *(Süßwasserform) durchgeführten Versuche*

Versuch Nr.	Datum	Schwarm der Unterart	Fische	Größe in mm	Wasser	Hautextrakt von	Konzentration (n)	Reaktion	Bemerkungen
1	16. 7.	h	5	20	Süßwasser	h	1/10	+++	
2	16. 7.	t	5	20	Süßwasser	h	1/500	+++	
3	16. 7.	t	5	20	Süßwasser	h	1/50000	+++	stärkste
4	16. 7.	t	8	20	Süßwasser	h	1/50000	+++	Verdünnung!
5	1. 8.	h	5	23	Süßwasser	t	1/20	++	
6	1. 8.	h	5	23	Süßwasser	t	1/50000	(+)	
7	1. 8.	t	5	23	Süßwasser	t	1/20	++	
8	1. 8.	t	5	23	Süßwasser	t	1/50000	–	
9	18. 9.	h	8	28	Süßwasser	h	1/50	++	
10	18. 9.	h	5	28	Süßwasser	h	1/100	+++	
11	18. 9.	h	6	28	Süßwasser	h	1/100	+++	
12	18. 9.	h	1	27	1/2 Seewasser	h	1/100	+++	
13	18. 9.	t	4	26	Süßwasser	h	1/100	+++	
14	18. 9.	t	6	26	Süßwasser	h	1/100	+	
15	18. 9.	t	7	26	1/5 Seewasser	h	1/50	++	
16	18. 9.	t	7	26	1/5 Seewasser	h	1/50	+	
17	4. 10.	h	5	30	Süßwasser	h	1/20	++	
18	4. 10.	h	5	30	Süßwasser	h	1/100	+	
19	4. 10.	t	5	30	Süßwasser	h	1/10	+	
20	4. 10.	t	5	30	Süßwasser	h	1/50	–	Flossenfäule
21	12. 10.	h	3	33	Süßwasser	t	1/25	+++	Fisch t, aus dem
22	12. 10.	t	4	33	1/2 Seewasser	t	1/25	(+)	der Extrakt ge-
23	12. 10.	t	2	33	1/2 Seewasser	t	1/25	+++	wonnen wurde,
24	12. 10.	t	5	33	1/2 Seewasser	t	1/25	++	lebte in Süß-
25	12. 10.	t	2	33	Seewasser	t	1/25	+–	wasser
26	12. 10.	t	5	33	Seewasser	t	1/25	+–	
27	21. 10.	h	3	35	Süßwasser	t	1/25	+++	Die gleichen
28	21. 10.	t	4	35	Süßwasser	t	1/25	++	Schwärme wie
29	21. 10.	t	2	35	Seewasser	t	1/25	++	am 12. 10.
30	21. 10.	t	5	35	Seewasser	t	1/25	+++	Fisch, aus dem
31	21. 10.	t	2	35	Seewasser	t	1/10	+	der Extrakt ge-
32	21. 10.	t	5	35	Seewasser	t	1/10	+++	wonnen wurde, lebte in See- wasser
33	23. 10.	t	5	37	Seewasser	t	1/10000	+++	Mit diesen
34	23. 10.	t	4	37	Seewasser	t	1/10000	++	Fischen waren
35	23. 10.	t	6	37	Seewasser	t	1/10000	+++	vorher keine Versuche durchgeführt worden

Abkürzungen: t = ssp. *taszanowskii*, h = ssp. *hakonensis*.

Tabelle 3. *Bisher auf Schreckreaktion und Kolbenzellen untersuchte Fische*

Zeichenerklärung: F = K. v. FRISCH; S = F. SCHUTZ; O = M. OXNER; K = S. KANN; + = vorhanden; — = fehlt; N = Neapel; A = Arcachon; H = Helgoland.

Aus dieser Tabelle geht hervor:

1. Welche Arten untersucht sind auf Schreckreaktion *und* Kolbenzellen.
2. Wo die einzelnen Arten untersucht sind, soweit ich sie geprüft habe.
3. Arten, die K. v. FRISCH 1941 und F. SCHUTZ 1956 auf Schreckreaktion geprüft haben und die von mir histologisch untersucht wurden.

Soweit nicht extra angegeben, wurden die Arten von mir auf Schreckreaktion und Kolbenzellen untersucht.

Die Meeresfische sind durch *Kursivdruck* hervorgehoben.

Ordnung bzw. Familie	Gattung, Art	Schreckreaktion	Zahl der Versuche [in ( ) der Schwärme]	Untersucht von	Versuche durchgeführt in	Kolbenzellen	Untersucht von
Elasmobranchii	*Torpedo marmorata* RISSO . .	—	2		A	—	
	Dasyatis pastinaca (L.) Syn. *Trygon pastinaca* CUV.	—	2		A	—	
Teleostomi							
Palaeopterygii							
Acipenseridae	*Acipenser sturio* L.	—	2		A	—	
Neopterygii							
Isospondyli							
Clupeidae	*Sardina pilchardus* (WALB.) Syn. *Clupea pilchardus* WALB.						
	Alosa sardina C. V.	—	4		N	—	
	Engraulis encrasicholus (L.) .	—	3		N	—	
	Alosa fallax (LAC.) Syn. *Clupea finta* CUV. . .	—	1		A	—	
	Clupea harengus L.	—	3 (2)		H	—	
Salmonidae	Salmo iridaeus V. GIBB. . . .	—		S		—	
	div. spec.	—		S		—	O, K
Haplomi							
Esocidae	Esox lucius L.	—		S		—	
Umbridae	Umbra krameri JOH. MÜLLER	—		S		—	
Apodes							
Anguillidae	Anguilla anguilla (L.) Syn. A. vulgaris FLEM. . .	—		S		—	
Congridae	*Conger conger* (L.) Syn. *C. vulgaris* CUV. . . .	—	3		A	—	
Synentognathi							
Belonidae	*Belone belone* (L.) Syn. *B. vulgaris* VAL. . . .	—	5 (3)		N	—	
Microcyprini							
Poecilidae	Lebistes reticulatus PETERS .	—	19			—	
	Platypoecilus maculatus GTHR.	—		S		—	
	Platypoecilus variatus S. E. MEEK	—		S		—	
Solenichthyes							
Syngnathidae	*Hippocampus guttulatus* CUV.	—	3		A	—	
	Hippocampus brevirostris CUV. Syn. *H. hippocampus* (L.) .	—	2		A	—	

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Ordnung bzw. Familie	Gattung, Art	Schreckreaktion	Zahl der Versuche [in ( ) der Schwärme]	Untersucht von	Versuche durchgeführt in	Kolbenzellen	Untersucht von
Anacanthini							
Gadidae	*Gadus luscus* L.						
	Syn. *Trisopterus luscus* (L.)	—	1		A	—	
	Gadus morrhua L.	—	8 (4)		H	—	
	Merlangus vulgaris FLEM. . .	—	12 (6)		H	—	
	Motella tricirrata YARELL						
	Syn. *Gaidropsarus tricirratus* (BRÜNN)	—	1		A	—	
Percomorphi							
Percoidea							
Serranidae	*Serranus cabrilla* L.	—	4		N	—	
	Serranus hepatus L.						
	Syn. *Pomacentropristis hepatus* (L.)	—	8		N	—	
	Serranus scriba (L.)	—	1		N	—	
	Marone labrax L.						
	Syn. *Labrax lupus* C. V. . .	—	1		A	—	
Apogonidae	*Apogon imberbis* L.	—	2		N	—	
Centrarchidae	Eupomotis gibbosus L. . . .	—	2			—	
	Mesogonistius chaetodon BAIRD	—		S		—	
Percidae	Perca fluviatilis L.	—		S		—	
Carangidae	*Trachurus trachurus* (L.)						
	Syn. *Charanx trachurus* L. .	—	12 (10)		N, A	—	
Maenidae	*Smaris vulgaris* C. V.	—	7		N	—	
Sparidae	*Diplodus sargus* (L.)						
	Syn. *Sargus Rondeletii* C. V.	—	9 (7)		N	—	
	Diplodus vulgaris GEOFFR.						
	ST.-HIL.	—	7 (4)		N	—	
	Diplodus annularis (L.) . . .	—	4 (2)		N	—	
	Charax puntazzo RISSO . . .	—	6 (3)		N	—	
	Oblada melanura L.	—	2 (1)		N	—	
	Sarpa salpa (L.)						
	Syn. *Box salpa* C. V. . . .	—	2 (1)		N	—	
	Boops boops (L.)						
	Syn. *Boops vulgaris* C. V. .	—	2 (1)		N	—	
	Dentex vulgaris CUV.	—	1		N	—	
	Spondyliosoma cantharus (L.)						
	Syn. *Cantharus vulgaris* C.V.	—	14 (8)		N, A	—	
	Pagellus erythrinus (L.) . . .	—	15		N, A	—	
Mullidae	*Mullus surmuletus* L.	—	3		A	—	
Labridae	*Julis vulgaris* C. V.						
	Syn. *Coris julis* (L.) . . .	—	2		N	—	
	Crenilabrus ocellatus FORSK. .	—	3		N	—	
	C. rostratus BLOCH.	—	2		N	—	
	C. pavo (CUV. u. VAL.) . . .	—	3		A	—	
	C. melops L.	—	2		A	—	
	Ctenolabrus rupestris C. V.						
	Syn. *Ct. suillus* (L.)	—	3		H	—	
Cichlidae	Pterophyllum eimekei E. AHL	—		S		—	
Pomacentridae	*Heliastes chromis* L.	—	19 (12)		N	—	

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Ordnung bzw. Familie	Gattung, Art	Schreckreaktion	Zahl der Versuche [in ( ) der Schwärme]	Untersucht von	Versuche durchgeführt in	Kolbenzellen	Untersucht von
Ammodytidae	*Ammodytes tobianus* L.	—	5 (3)		H	—	
Trachinidae	*Trachinus vipera* C. V.	—	2		A	—	
Scombroidea							
Scombridae	*Pelamys sarda* BLOCH.	—	1		N	—	
	Scomber scombrus L.	—	2		H	—	
Gobioidea							
Gobiidae	*Gobius niger* L.	—	3		N	—	
	Gobius paganellus L.	—	8		N, A	—	
	Gobius microps KROYER	—	2		A	—	
	Gobius minutus PALLAS	—	2		A	—	
Callionymoidea							
Callionymidae	*Callionymus lyra* L.	—	3		A	—	
Blenniidae	*Blennius gattorugine* BRÜNN.	—	4 (2)		N	—	
	Blennius pholis L.	—	1		A	—	
Anabantoidea							
Anabantidae	Macropodus opercularis (L.)	—		S		—	
	Trichogaster trichopterus (PALLAS)	—		S		—	
Mugiloidea							
Atherinidae	Telmatherina ladigese AHL.	—		S		—	
	Atherina presbyter CUV.	—	7		A	—	
Mugilidae	*Mugil chelo* CUV.	—	2		A	—	
	Mugil div. spec.	—	17		N	—	
Scleroparei							
Scorpaenidae	*Scorpaena porcus* L.	—	2		A	—	
Triglidae	*Trigla lucerna* L.	—	2		A	—	
	Trigla gurnardus L.	—	1		H	—	
Cottidae	Cottus gobio L.	—		S		—	
	Cottus scorpius L.	—	2		H	—	
Agonidae	*Agonus cataphractus* L.	—	4		H	—	
Cyclopteridae	*Cyclopterus lumpus* L.	—	2		H	—	
Gasterosteidae	Gasterosteus aculeatus L.	—		S		—	
Heterosomata							
Pleuronectidae	*Pleuronectes platessa* L.	—	3 (2)		H	—	
	Pleuronectes limanda L.	—	2		H	—	
Rhombidae	*Rhombus maximus* L.	—	1		H	—	
Soleidae	*Solea vulgaris* QUENSEL Syn. *Solea solea* (L.)	—	1		H	—	
Plectognathi							
Balistidae	*Balistes aculeatus* (L.)	—	3			—	
Xenopterygii							
Gobiesoxidae	*Lepadogaster microcephalus* BROOK., Syn. *Apletodon microcephalus* (BROOK.)	—	1		A	—	
Ostariophysi							
Cyprinoidea							
Cyprinidae	Phoxinus laevis AG.	+		F		+	
	Leuciscus erythrophthalmus L.	+		F		+	

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Ordnung bzw. Familie	Gattung, Art	Schreckreaktion	Zahl der Versuche [in ( ) der Schwärme]	Untersucht von	Versuche durchgeführt in	Kolbenzellen	Untersucht von
	Cyprinus carpio L.	+		S		+	
	Carassius carassius L.	+		S		+	O
	Tinca vulgaris Cuv.	+		S		+	K
	Gobio fluviatilis L.	+		S		+	
	Leuciscus rutilus L.	+		S		+	
	Leuciscus leuciscus L.	+		S		+	
	Squalius cephalus Heck.	+		S		+	
	Idus melanotus Heck.	+		S		+	
	Telestes agassizi Heck.	+		S		+	
	Rhodeus amarus Bl.	+		S		+	
	Alburnus bipunctatus L.	+		S		+	
	Alburnus lucidus Heck.	+		S		+	
	Leucaspius delineatus Sieb.	+		S		+	
	Brachydanio rerio (Ham.-Buch.)	+		S		+	
	Brachydanio albolineatus (Blyth)	+		S		+	
	Danio malabaricus (Jerdon)	+		S		+	
	Esomus lineatus E. Ahl	+		S		+	
	Tanichthys albonubes L.	+		S		+	
	Tribolodon hakonensis hakonensis (Günther)	+	11 (9)			+	
	Tribolodon hakonensis taszanowskii (Steindachner)	+	24 (9)			+	
Characidae	Aphyocharax rubropinnis Pappenheim	+		S		+	
	Pristella ridlei Meek	+		S		+	
	Hemigrammus ocellifer (Steindachner)	+		S		+	
Cobitidae	Nemachilus barbatulus (L.)	+		S		+	
Siluroidea							
Amiuridae	Amiurus nebulosus (Leseur)	+	4			+	
Callichthydae	Corydoras palaeatus (Jenyns)	+		S		+	
Siluridae	Cryptopterus bicirrhis (Cuv. u. Val.)	+	5 (2)			+	

Am 16. 7. 59 waren die Fischchen zahm und auf etwa 20 mm herangewachsen. Zu diesem Zeitpunkt wurden die ersten Versuche durchgeführt. Diese und alle weiterhin durchgeführten Versuche sind aus Tabelle 2 zu ersehen. Schon bei den ersten Versuchen zeigte sich, daß diese japanischen Cypriniden eine Schreckreaktion haben. Der gefundene Schwellenwert von 1/50000 n, bei dem beide Formen noch heftig reagieren, stimmt mit dem von F. Schutz (1956) für die Elritze festgestellten Wert überein. Die Tatsache, daß beide Formen auf Schreckstoff beider Formen bei dieser sehr starken Verdünnung noch stark ansprechen, zeigt ihre nahe Verwandtschaft miteinander und bestätigt die Anschauung von M. Nakamura und M. Yaeko (1953), die beide

Formen, im Gegensatz zu früheren Autoren, als Unterarten einer Art auffassen.

Um festzustellen, ob diese Fische auch eine Schreckreaktion haben, wenn sie größer sind und *Tribolodon hakonensis taszanowskii* (STEINDACHNER) in Seewasser lebt, nahm ich je 60 Fische mit nach Helgoland und setzte dort die Versuche fort. Die Ergebnisse dieser, aus Tabelle 2 ersichtlichen Versuche sind: Beide Formen können, auch wenn sie kleiner sind als 35 mm, in 1/2 Seewasser leben und haben in 1/2 Seewasser eine Schreckreaktion. Nur die Seewasserform kann, wenn sie mindestens 33 mm groß ist, unbegrenzt in Seewasser leben und hat in Seewasser wie in Süßwasser eine Schreckreaktion. Der Schwellenwert der Reaktion ist von der Art des Wasser unabhängig. Drei Schwärme reagierten in Seewasser noch auf 1/10000 n-Extrakt stark. Es ist gleichgültig, ob der Fisch, von dem der Schreckstoff stammt, in See- oder Süßwasser lebte.

F. SCHUTZ (1956) stellte fest, daß der Schreckstoff einer Art um so mehr auf eine andere Art schreckauslösend wirkt, je näher beide Arten miteinander verwandt sind. Seine Annahme, daß auch ausländische Cypriniden auf einheimische eine Schreckwirkung haben können und umgekehrt, wenn sie nur nahe genug verwandt sind, konnte durch folgende Versuche bestätigt werden:

1. 1/5 n-Extrakt beider Formen von *Tribolodon* wirkt in allen 3 Versuchen stark.
   a) 12 Elritzen, Extrakt von *T. h. hakonensis*: +++
   b) 20 Elritzen, Extrakt von *T. h. hakonensis*: ++
   c) Etwa 100 Elritzen, Extrakt von *T. h. taszanowskii*: +++
2. Umgekehrt ist 1/5 n-Extrakt der Elritze schreckauslösend bei allen fünf geprüften, in Süßwasser lebenden Schwärmen von *Tribolodon h. hakonensis* und *T. h. taszanowskii*:
   a) 9 *T. h. hakonensis*, 1/5 n-Extrakt der Elritze: +++
   b) 6 *T. h. hakonensis*, 1/5 n-Extrakt der Elritze: ++
   c) 2 *T. h. taszanowskii*, 1/5 n-Extrakt der Elritze: ++
   d) 9 *T. h. taszanowskii*, 1/5 n-Extrakt der Elritze: +++
   e) 5 *T. h. taszanowskii*, 1/5 n-Extrakt der Elritze: ++

Durch diese Versuche ist auch gezeigt, daß es sich bei den japanischen Cypriniden um die gleiche Schreckreaktion wie bei unseren einheimischen Cypriniden handelt. Alle Versuche mit jeweils 1/5 n-Extrakt endeten mit einer starken oder sehr starken Reaktion, woraus die relativ nahe Verwandtschaft von *Tribolodon (Syn. Leuciscus) hakonensis* mit der Elritze (*Phoxinus laevis* AG). hervorgeht. Tabelle 3 bringt eine Übersicht über alle bisher auf die Schreckreaktion hin untersuchten Fischarten.

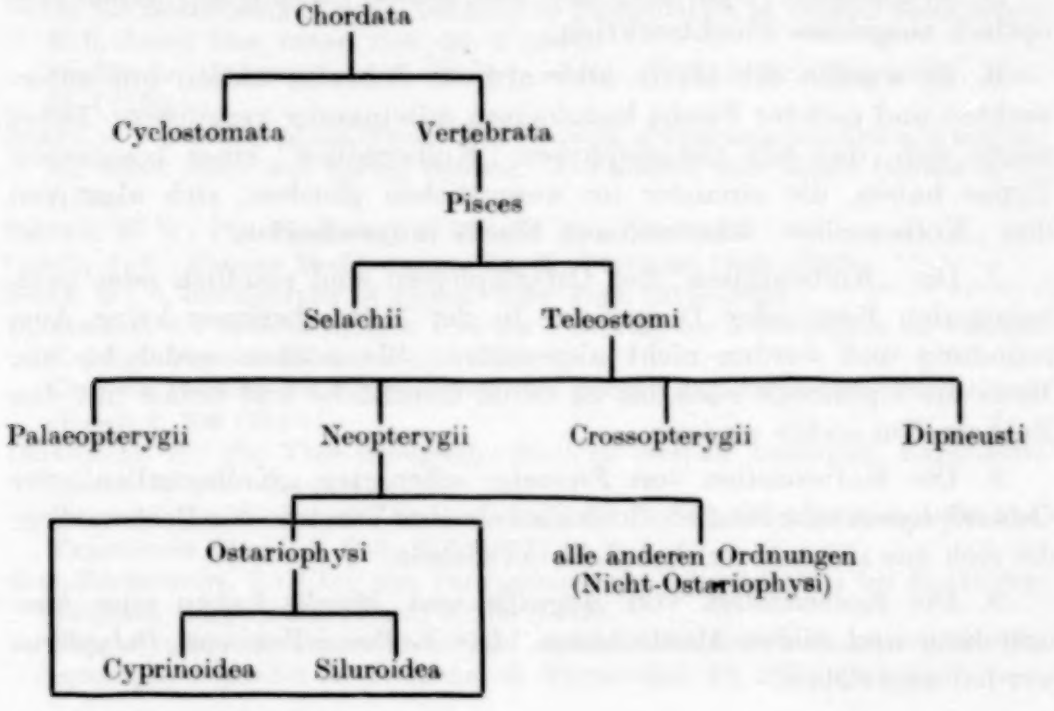
Die geographische Verbreitung der Schreckreaktion deckt sich mit der Verbreitung der *Ostariophysi*. Die Schreckreaktion wurde bisher nachgewiesen für *Ostariophysi* aus Nord- und Südamerika, Vorder- und Hinterindien, Japan und Europa. Bei sämtlichen bisher unter-

suchten Meeresfischen handelt es sich, mit Ausnahme von *Tribolodon hakonensis taszanowskii* (STEINDACHNER), um „Nicht-Ostariophysen". Von allen untersuchten Meeresfischen hat nur diese Art eine Schreckreaktion.

Obwohl die von K. v. FRISCH 1938 bei der Elritze entdeckte *Schreck*-Reaktion innerhalb der Klasse der Fische *(Pisces)* auf die *Ostariophysi* beschränkt ist, heißt das natürlich nicht, daß alle anderen Fische keine *Flucht*-Reaktion haben. Alle von mir beobachteten Arten nehmen Gefahren wahr. Meistens sind keine besonderen Verhaltensweisen ausgebildet, sondern die Fische fliehen oder verstecken sich vor größeren Verfolgern, wenn sie nicht durch Giftdrüsen *(Pterois)* oder elektrische Organe *(Torpedo)* besonders geschützt sind. Die genauer untersuchten *Sparidae* und *Mugilidae* haben ein bestimmtes Fluchtverhalten, das optisch ausgelöst wird. Die biologische Bedeutung dieser Fluchtreaktion ist dieselbe wie die der Schreckreaktion: Schutz der Art vor Verlusten durch räuberische Überfälle. Im Unterschied zur Schreckreaktion schützt die optisch ausgelöste Fluchtreaktion nicht nur den Schwarm, sondern auch jedes einzelne Individuum. Aber sie wird unter Bedingungen, welche die Sicht erschweren (Dunkelheit, trübes Wasser, Tarnung des Feindes u. dgl.), nur mangelhaften Schutz gewähren.

V. Übersicht über die Verbreitung von Schreckstoffzellen und Schreckstoff bei Fischen

Schreckreaktion und Schreckstoffzellen sind auf die in der Übersicht umrahmten Fische beschränkt.



Wenn man annimmt, daß die Schreckreaktion entstanden ist, bevor sich die *Ostariophysi* in *Siluroidea* und *Cyprinoidea* gespalten haben, so ist ihre Entstehung etwa im Oligozän anzunehmen, denn im Eozän gab es bereits *Siluroidea*, im Miozän *Cyprinoidea*.

Nimmt man an, daß die Schreckreaktion durch Selektionsdruck entstanden ist, so kann man folgern, daß die „Ur-Ostariophysen" in Schwärmen lebten, denn nur so konnte der Selektionsdruck ansetzen.

Zusammenfassung

1. In über 250 Versuchen wurden 66 Arten Meeresfische aus 32 verschiedenen Familien und in über 100 Versuchen 7 Arten Süßwasserfische aus 4 verschiedenen Familien auf die Schreckreaktion hin untersucht.

2. Die von Elritzen und anderen Cypriniden, von Cobitiden und Characiden bekannte Schreckreaktion ist unter den Ostariophysen allgemein verbreitet und auf diese Ordnung beschränkt. Sie fehlt allen untersuchten Seewasserfischen der europäischen Meere.

3. Die Schreckreaktion der Welse *(Siluroidea)* ist der Schreckreaktion der Elritze gleichzusetzen.

4. Die Schreckreaktion kommt auch bei dem japanischen Meerescypriniden *Tribolodon hakonensis taszanowskii* (STEINDACHNER) vor, ist also nicht an das Leben im Süßwasser gebunden. Die Empfindlichkeit dieses Fisches in See- wie in Süßwasser auf arteigenen Schreckstoff kommt der Empfindlichkeit der Elritze gleich.

5. Meerbrassen *(Sparidae)* und Meeräschen *(Mugilidae)* haben eine optisch ausgelöste Fluchtreaktion.

6. Es wurden die Häute aller auf die Schreckreaktion hin untersuchten und anderer Fische histologisch miteinander verglichen. Dabei zeigte sich, daß alle Ostariophysen „Kolbenzellen" eines besonderen Typus haben, die einander im wesentlichen gleichen, sich aber von den „Kolbenzellen" aller anderen Fische unterscheiden.

7. Die „Kolbenzellen" der Ostariophysen sind rundlich oder oval, haben den Kern oder Doppelkern in der Mitte, besitzen keine Ausmündung und werden nicht abgestoßen. Sie reichen weder bis zur Basis der Epidermis noch bis zu deren Oberfläche und haben mit den Becherzellen nichts zu tun.

8. Die Kolbenzellen von *Fierasfer* sehen den „Kolbenzellen" der Ostariophysen sehr ähnlich, doch sind sie eine Vorstufe der Becherzellen, die sich aus ihnen in reicher Zahl entwickeln.

9. Die Kolbenzellen von *Anguilla* und *Motella* haben eine Ausmündung und bilden Hautschleim. Die Kolbenzellen von *Polypterus* werden abgerieben.

10. Die Kolbenzellen von *Petromyzon* sind als einzige „Kolbenzellen" kolbenförmig und haben wie diejenigen von *Motella* den Kern an der Peripherie, im Gegensatz zu den „Kolbenzellen" aller anderen Fische.

11. Die „Kolbenzellen" der *Ostariophysi* sind über den Körper gleichmäßig verteilt. Nur an den Barteln sind sie viel seltener und kleiner als am Rumpf. Die Epidermis von Barteln löst im Gegensatz zu der gleichen Menge Epidermis vom Rumpf keine Schreckreaktion aus.

12. Die Befunde dieser Untersuchungen lassen erkennen, daß der Schreckstoff der *Ostariophysi* aus ihren „Kolbenzellen" stammt, für welche der Name „*Schreckstoffzellen*" vorgeschlagen wird.

Literatur

Ancona, N. D.: Uova, larve e stadi giovanili di Teleostei. Fauna e Flora del Golfo di Napoli, Monogr. **38** (1937).

Bauchot, M. E., R. Bauchot et P. Lubet: Etude de la Faune ichthyologique du bassin d'Arcachon (Gironde). Bull. Muséum, II. s. **29**, 385—406 (1957).

Berg, L. S.: System der rezenten und fossilen Fischartigen und Fische. Berlin 1958.

Bertin, L.: Glandes cutanées et organes lumineux. Traité Zool. Grassé (Paris) **13**, 459—481 (1958).

Berwein, M.: Beobachtungen und Versuche über das gesellige Leben von Elritzen. Z. vergl. Physiol. **28**, 402—420 (1941).

Bielig, H. I.: Pterine. Fiat-Ber. Biochem. **39**, 84 (1947).

Bouteville, K. v.: Untersuchungen über den Gehörsinn von Characiden und Gymnotiden und den Bau ihres Labyrinthes. Z. vergl. Physiol. **22**, 162—191 (1935).

Breder jr., C. M.: Observations on coloration in reference to behavior in tidepool and other marine shore fishes. Bull. Amer. Mus. natur. Hist. **92**, 5 (1948).

— On the relationship of social behavior to pigmentation in tropical shore fishes. Bull. Amer. Mus. natur. Hist. **94**, 2 (1949).

— Studies on the structure of the fish school. Bull. Amer. Mus. natur. Hist. **98**, 1 (1951).

Brett, J. R., and D. MacKinnon: Some aspects of olfactory perception in migrating adult Coho and Spring Salmon. J. Fisheries Res. Board Canada **3**, 11 (1954).

Brown, M. E.: The Physiology of Fishes. New York 1957.

Carus, J. V.: Faunae Mediterranae, Bd. 2. Stuttgart 1889—1893.

Dean, B.: A Bibliography of Fishes. New York 1916—1923.

Dijkgraaf, S.: Untersuchungen über die Funktion der Seitenorgane an Fischen. Z. vergl. Physiol. **20**, 162—215 (1933).

— Über die Reizung des Ferntastsinnes bei Fischen und Amphibien. Experientia (Basel) **3**, 206 (1947).

Dijkgraaf, S.: Ein Töne erzeugender Fisch im Neapler Aquarium. Experientia (Basel) **3**, 493—494 (1947).

— Bau und Funktionen der Seitenorgane und des Ohrlabyrinthes bei Fischen. Experientia (Basel) **8**, 205—216 (1952).

Eibl-Eibesfeldt, I.: Über das Vorkommen von Schreckstoffen bei Erdkrötenquappen. Experientia (Basel) **5**, 236 (1949).

— Über Symbiosen, Parasitismus und andere besondere zwischenartliche Beziehungen tropischer Meeresfische. Z. Tierpsychol. **12**, 203—229 (1955).

FRANZ, V.: Die biologische Bedeutung des Silberglanzes in der Fischhaut. Biol. Zbl. **27**, 278—285 (1907).
— Zur mikroskopischen Anatomie der Mormyriden. Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. **42**, 91—148 (1920).
FRISCH, K. v.: Über die Bedeutung des Sacculus und der Lagena für den Gehörsinn der Fische. Z. vergl. Physiol. **25**, 703—747 (1928).
— Über den Gehörsinn der Tiere. Natur u. Museum H. 6 (1931).
— Zur Psychologie des Fischschwarmes. Naturwissenschaften **26**, 601—606 (1938).
— Die Bedeutung des Geruchssinnes im Leben der Fische. Naturwissenschaften **29**, 321—333 (1941).
— Über einen Schreckstoff der Fischhaut und seine biologische Bedeutung. Z. vergl. Physiol. **29**, 46—145 (1941).
—, u. S. DIJKGRAAF: Können Fische die Schallrichtung wahrnehmen? Z. vergl. Physiol. **22**, 641—655 (1935).
—, u. H. STETTER: Untersuchungen über den Sitz des Gehörsinnes bei der Elritze. Z. vergl. Physiol. **17**, 686—801 (1932).
GÖZ, H.: Über den Art- und Individualgeruch bei Fischen. Z. vergl. Physiol. **29**, 1—45 (1941).
GRIFFINI, A.: Ittiologia Italiana. Milano 1903.
GÜNDER, I.: Über den papierchromatographischen und fluoreszenzmikroskopischen Nachweis von Pterin und Riboflavin bei Amphibien und Reptilien. Naturwissenschaften **40**, 20—21 (1953).
— Nachweis und Lokalisation von Pterinen und Riboflavin in der Haut von Amphibien und Reptilien. Z. vergl. Physiol. **36**, 78—114 (1954).
HASLER, A.: Odour perception and orientation in fishes. J. Fisheries Res. Board Canada **2**, 11 (1954).
HEINTZ, E.: Actions répulsives exercées sur divers animaux par des substances contenues dans la peau ou le corps d'animaux de même espèce. C. R. Soc. Biol. (Paris) **148**, 585 (1954).
— Nouvelles actions répulsives exercées par la peau ou le corps de divers animaux sur des animaux de même espèce. C. R. Soc. Biol. (Paris) **148**, 717 (1954).
— Des répulsifs nouveaux: les répulsifs spécifiques. Expériences sur l'abeille et le Doryphore. Phytiatrie-Phytopharmacie **45**, 45—54 (1955).
— Le comportement d'Apis mellifica sous l'influence de broyats d'Apis mellifica. Ann. Biol. **34**, 53—83 (1958).
HERTER, K.: Die Fischdressuren und ihre sinnesphysiologischen Grundlagen. Berlin 1953.
HIATT, R. W., J. NAUGHTON and D. C. MATTHEWS: Effect of chemicals on a schooling fish, Kuhlia sandvicensis. Biol. Bull. **104**, 28—44 (1953).
HIRSCH, G. C., u. W. JACOBS: Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. Z. vergl. Physiol. **12**, 524—559 (1930).
HOAGLAND, R., D. MORRIS and N. TINBERGEN: The spines of sticklebacks (Gasterosteus and Pygosteus) as means of defence against predators (Perca and Esox). Behaviour **10**, 205—236 (1956/57).
HOLST, E. v.: Bausteine zu einer vergleichenden Physiologie der lokomotorischen Reflexe bei Fischen. Z. vergl. Physiol. **24**, 532—563 (1957).
HRBACEK, I.: On the flight reaction of the tadpoles of the common toad caused by chemical substances. Experientia (Basel) **6**, 100—101 (1950).
MAURER, F.: Die Epidermis. Leipzig 1895.
MÖHRES, F. P.: Untersuchungen über die Frage der Wahrnehmung von Druckunterschieden des Mediums. Z. vergl. Physiol. **28**, 1—42 (1941).
— Über die Ultraschallorientierung der Hufeisennasen. Z. vergl. Physiol. **34**, 547—588 (1953).

Morrow, J. E.: Schooling behavior in fishes. Quart. Rev. Biol. **23**, 27—38 (1948).

Nakamura, M., and M. Yaeko: On the differentiation of freshwater and brackish-water forms of Japanese Cyprinid fish refered to genus Tribolodon. Miscell. Rep. Res. Inst. for Natural Resources. **32**, 11—22 (1953).

Neurath, H.: Über die Leistung des Geruchsinnes bei Elritzen. Z. vergl. Physiol. **31**, 609—627 (1949).

Nordquist, H.: Zur Kenntnis der Kolbenzelle der Schleie *(Tinca vulgaris)*. Zool. Anz. **33** (1908).

Nusbaum, I., u. W. Kulzycki: Materialien zur vergleichenden Histologie der Hautdecke der Wirbeltiere. Anat. Anz. **28**, 337—354 (1906).

Oxner, M.: Über die Kolbenzellen in der Epidermis der Fische. Jena. Z. Naturwiss. **40** (1905).

Palombi, A., e M. Santarelli: Gli animali commestibili dei mari d'Italia. Milano 1953.

Parr, A. E.: A contribution to the theoretical analysis of the schooling behavior of fishes. Occas. papers of the Bingham Oceanogr. Coll. **1**, 1—32 (1927).

Pawlowsky, E.: Über den Bau der Epidermis von Haut und Lippen bei *Schizothorax intermedius* und *Capoeta heratensis*. Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. **31**, 289—316 (1911).

Perrier, R.: La faune de la France, tome 10. Paris 1954.

Pfeiffer, W.: Über die Verbreitung der Schreckreaktion bei Fischen. Naturwissenschaften **47**, 23 (1960).

Rasquin, P.: Studies to the control of pigment cells and light reactions in recent teleost fishes. Bull. Amer. Mus. natur. Hist. **115** (1958).

Rauther, M.: Einige Beobachtungen über die Hautdrüsen der Siluriden. Ber. oberhess. Ges. Naturwiss. Heilk. **2** (1907).

— Echte Fische. Bronn, Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Bd. 6. 1940.

Ries, E.: Grundriß der Histophysiologie. Leipzig 1938.

Romeis, B.: Mikroskopische Technik. München 1948.

Roulet, F.: Methoden der pathologischen Histologie. 1948.

Satô, M.: The sensibility of the barbel of *Upeneus spilurus* Bleeker with some notes on the schooling. Sc. Rep. Tôhoku Imp. Univ. IV. s. Biol. **12**, No 4 (1938).

—, and B. G. Kooper: Histological observations on the barbels of Indian freshwater fishes, Alaska Codfish and *Podothecus acipenserinus*. Annotationes Zool. Jap. **30**, No 3 (1957).

Schäperclaus, W.: Fischkrankheiten. Berlin 1954.

Schnakenbeck, W.: Pisces. In Kükenthals Handbuch der Zoologie, Bd. 6. 1955.

Schultze, M.: Die kolbenförmigen Gebilde in der Haut von Petromyzon und ihr Verhalten im polarisierten Licht. Arch. Anat. Du-Bois-Reymond (1861).

Schulze, F. E.: Freie Nervenendigungen in der Epidermis der Knochenfische. S.-B. k. k. Akad. Wiss. Berlin 8, 87—88 (1892).

Schutz, F.: Vergleichende Untersuchungen über die Schreckreaktion bei Fischen und deren Verbreitung. Z. vergl. Physiol. **38**, 84—135 (1956).

Smith, J. L. B.: The Sea Fishes of Southern Africa. Cape Town 1953.

Soljan, T.: Ribe Jadrana. Split 1948.

Spooner, G. M.: Some observations on schooling in fish. J. Mar. biol. Ass. U. Kingd. **17**, 421—428 (1930/31).

Studnicka, F. K.: Drüsenzellen und Cuticulargebilde der Epidermis von Lepadogaster. Anat. Anz. **29** (1906).

Tack, E.: Die Elritze, eine monographische Bearbeitung. Arch. Hydrobiol. **37**, 321—425 (1940).

Teichmann, H.: Vergleichende Untersuchungen an der Nase der Fische. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **43**, 171—212 (1954).
— Das Riechvermögen des Aales (*Anguilla anguilla* L.). Naturwissenschaften **44**, 242 (1957).
—, u. R. Teichmann: Untersuchungen über den Geruchssinn der Haifische. Pubbl. Staz. zool. Napoli **31**, 76—81 (1959).
Thorpe, W. H.: Learning and Instinct in Animals. London 1956.
Tinbergen, N.: The Study of Instinct. Oxford 1951.
Tortonese, E.: Fauna e Flora del Golfo di Napoli. Monogr.
Verheijen, F. J.: On a method for collecting and keeping clupeids for experimental purposes, together with some remarks on fishery with lightsources and short description of free cupulae of the lateral line organ on the trunk of the sardine, *Clupea pilchardus* Walb. Pubbl. Staz. zool. Napoli **28**, 225—240 (1955).
— Transmission of flight reaction amongst fish. Experientia (Basel) **12**, 202—203 (1956).
Wohlfahrt, T.: Das Ohrlabyrinth der Sardine. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **31**, 371—410 (1936).
Wunder, W.: Sinnesphysiologische Untersuchungen über die Nahrungsaufnahme bei verschiedenen Knochenfischarten. Z. vergl. Physiol. **6**, 67—98 (1927).
Ziegler-Günder, I.: Pterine — Pigmente und Wirkstoffe im Tierreich. Biol. Rev. **31**, 313—348 (1956).
— Untersuchungen über die Purin- und Pterinpigmente in der Haut und in den Augen der Weißfische. Z. vergl. Physiol. **39**, 163—189 (1956).

Dr. Wolfgang Pfeiffer,
Zoolog. Institut der Universität, München 2, Luisenstr. 14

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 615—641 (1960)

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Erlangen

ÜBER DAS FÄCHELN DER BIENEN UND DESSEN VERHÄLTNIS ZUM FLIEGEN *

Von

WALTER NEUHAUS und RICHARD WOHLGEMUTH

Mit 18 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. August 1960)

Inhaltsverzeichnis

Seite

A. Einleitung 615
B. Allgemeine Beobachtungen über das Fächeln 616
C. Die Eigenschaften des natürlichen Fächelstromes 619
1. Geschwindigkeit und Richtung des Fächelstromes 620
2. Temperatur 621
3. Schwingungsfrequenz 621
D. Das Fächeln im künstlichen Luftstrom 622
1. Versuchsanlage 622
2. Versuchsverlauf 623
3. Wirkung der Einzelfaktoren 624
a) Schwingungsfrequenz S. 624. — b) Strömungsgeschwindigkeit S. 626. — c) Temperatur des Luftstromes S. 627. — d) Einfluß des Volksgeruches S. 627
4. Rückblick 628
E. Das Alter der fächelnden Bienen 628
F. Fächel- und Flugbewegung 630
1. Flugbewegungen 631
2. Fächelbewegungen 635
3. Flug- und Fächelton 637
4. Vergleich von Fächeln und Fliegen 638
Zusammenfassung 639
Literatur 640

A. Einleitung

Unter Fächeln versteht man bei den sozialen Hymenopteren ein im Stand ausgeführtes Flügelschwirren, das dazu dient, die Luft in der Umgebung des fächelnden Insektes in gewisser Weise in Bewegung zu setzen. Von dem bei Bienen bekannten Sterzeln unterscheidet sich das Fächeln dadurch, daß die auf der 7. Dorsalschuppe des Abdomens liegende Duftdrüse geschlossen bleibt. Dem durch die Flügelbewegung entstehenden Luftstrom wird daher beim Fächeln keine Duftkomponente beigegeben, abgesehen von dem Allgemeinduft, der dem Stocke eigen ist.

Das Fächeln finden wir bei allen sozialen Hymenopteren, soweit sie durch den Besitz von Flügeln überhaupt dazu in der Lage sind. Immer

* Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

steht es in engem Zusammenhang mit der Brutpflege. Bei *Polistes* wurde das Fächeln ursprünglich als ein Mittel gedeutet, durch das eine „in der Tiefe der Zellen vorhandene Luftstagnation verhindert wird" (SCHMITT 1919). Die gleiche Ansicht vertritt noch WEYRAUCH (1928). Diese für das offenliegende Nest von *Polistes* unwahrscheinliche Deutung ersetzt STEINER (1930a, 1932, 1934) durch die Annahme, daß das Fächeln eine Hilfstätigkeit der Wärmeregulation sei. Das bei Überhitzung der Brut einsetzende Fächeln leitet einen kräftigen Luftstrom über das Nest, wodurch die auf Zelldeckeln und -wänden verteilten Wassertröpfchen rasch verdunsten und dem Nest Verdampfungswärme entzogen wird. Im gleichen Sinne wird das Fächeln auch von den anderen flügeltragenden Hymenopteren angewandt (HIMMER 1927, 1931, 1932, 1933; LINDAUER 1951, 1954; WEYRAUCH 1936). Bei den kompakten Nestern der Gattung *Vespa*, der Hummeln und der Honigbiene, die meist nur durch eine relativ kleine Öffnung mit der Außenwelt in Verbindung stehen, dient das Fächeln auch der Lufterneuerung, falls diese durch zu hohen CO_2-Gehalt, zu hohe relative Feuchte oder chemische Reizstoffe, z. B. Rauch, für das Volksganze ungeeignet ist. Im weiteren soll nur auf das durch Überhitzung hervorgerufene Fächeln des Bienenvolkes eingegangen werden.

B. Allgemeine Beobachtungen über das Fächeln

Die Bienen fächeln, sobald die Temperatur in der Beute eine gewisse Grenze überschritten hat. Bei Anwesenheit von Brut liegt diese Grenze bei etwas über 36° C (HESS 1926, WOHLGEMUTH 1957). Die Fächler treten jedoch nicht nur in den überhitzten Teilen der Beute auf, sondern stehen auch im Flugloch, auf dem Flugbrett und den angrenzenden Teilen des Kastens, die nicht mit zum Regelbereich, der das Brutnest umfaßt, gehören. Temperaturmessungen zwischen den hier fächelnden Bienen zeigen, daß die Wärmeverhältnisse an diesen Orten häufig durchaus bienengenehm sein können (BÜDEL 1957, 34° C; eigene Messungen 35—36° C), also nicht der unmittelbare Anlaß zum Fächeln sind. Dieses Verhalten ist vorteilhaft, denn erst dadurch wird die Luftströmung durch den Engpaß Flugloch ins Freie geleitet. Im anderen Falle würde das Fächeln nur zu einer verstärkten Turbulenz im Kasteninneren führen, die Austauschrate durch das Flugloch bliebe wesentlich geringer. Es erhebt sich die Frage, wodurch die außerhalb des Regelbereiches Brutnest stehenden Fächler, die ja die Situation in der Beute direkt nicht wahrnehmen dürften, zu ihrer Tätigkeit veranlaßt werden. Es sind zwei Möglichkeiten denkbar:

1. Die Biene hat im Regelbereich die Temperaturabweichung vom Sollwert wahrgenommen. Dadurch wird ihr Fächeltrieb ausgelöst, der eine Befriedigung verlangt. Falls sie im Regelbereich keinen geeigneten

Platz zum Fächeln mehr findet, begibt sie sich in die angrenzenden Bezirke, also ins Flugloch, aufs Flugbrett, um dort bis zum Abklingen des Triebes zu fächeln.

Wenn diese Annahme richtig sein soll, muß eine neu sich unter die Fächler einreihende Biene stets aus dem Kasteninneren kommen. Diese Voraussetzung trifft jedoch nicht zu. Es konnte häufig beobachtet werden, wie eine von außen anfliegende Biene zu fächeln begann. Besonders eindeutig und gut zu beobachten ist das bei solchen, die Pollenhöschen tragen. An diesem auffallenden Merkmal konnten sie leicht verfolgt werden.

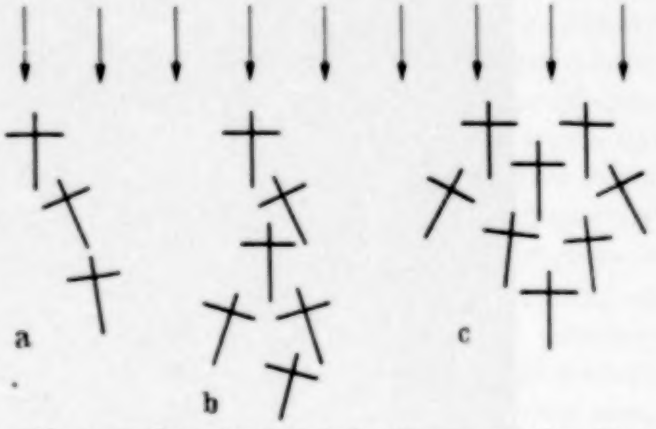


Abb. 1. Stellung der fächelnden Bienen vor dem Flugloch. a Fächelkette; b Fächelkette mit Verzweigung; c schachbrettartige Anordnung

Man könnte einwenden, die beobachteten Bienen würden durch das Beispiel der bereits auf dem Flugbrett stehenden Fächler angeregt, sich ihnen anzuschließen. Dann müßte aber auch nach dem Aufhören des Wärmereizes das Fächeln noch lange andauern, da durch das „Beispiel" ja stets neue Bienen angelockt würden. Das ist aber keineswegs der Fall. Im Gegenteil wird die Zahl der Fächler sehr rasch kleiner. Auch zeigt unsere bisherige Kenntnis des Bienenlebens, daß die Bienen die Tätigkeit ihrer Stockgenossen nicht unmittelbar nachahmen. Nur dann ist eine geordnete und geregelte Arbeitsteilung möglich.

2. Die zweite Möglichkeit ist, daß die im Regelbereich fächelnden Bienen mit ihrer Tätigkeit eine Art Nachricht von der im Kasteninneren herrschenden Situation geben, die bis vor das Flugloch hinaus wahrnehmbar ist.

Beobachtet man die Stellung der Fächler zueinander, so ist eine eindeutig bevorzugte Anordnung zu erkennen: Die vom Flugloch entferntere, also im Sinne der Luftströmung hintere Biene steht mit dem Kopf seitlich neben dem Hinterleib der vorderen, wobei sich die Körperlängsachsen, von oben gesehen, etwa in einem Winkel von 25—30° schneiden. Häufig stehen die Fächler auch direkt hintereinander. Die Körperlängsachsen sind ebenfalls etwas gegeneinander abgewinkelt (Abb. 1 a).

Da sich jede folgende Biene in ähnlicher Weise anschließt, entsteht eine Fächlerkette (Abb. 2), die sich auch verzweigen kann, wenn sich an

einen Fächler rechts und links andere anreihen (Abb. 1b). Meist besteht eine solche Kette vor dem Flugloch jedoch nur aus 3—5 Gliedern. Da sich die einzelnen Ketten seitlich ineinander verzahnen, entsteht oft ein schachbrettartiges Muster (Abb. 1c). In dieser Anordnung stehen vor jeder Biene 2 Fächler; die Körperachsen laufen hier mehr oder

Abb. 2. 5gliedrige Fächlerkette

weniger parallel. Die Achsenneigung zeigen nur noch die Randglieder. — Es muß betont werden, daß die hier beschriebene Anordnung der Fächler praktisch nie ideal verwirklicht ist. Doch läßt sich das Grundschema wohl stets herauslesen.

Man kann leicht zeigen, daß die gegenseitige Anordnung nicht zufällig ist. Wenn man aus einer Fächlerkette ein Glied entfernt, so wird der darauffolgende Fächler schon nach einigen Sekunden unruhig und rückt in die Stellung der beseitigten Biene nach. Stellt man vor einen Fächler ein Glasplättchen (Deckglas), so verläßt er meist nach einigen Augenblicken seinen Platz und sucht sich eine andere Stelle.

Neben diesen Fächlern, die stets in beschriebener Weise in Zusammenhang mit dem Regelbereich stehen, sieht man häufig, wenn die Vorderseite der Beute von der Sonne beschienen ist, einzelne Fächler, die ohne ersichtliche Verbindung mit dem Volksganzen ihre Tätigkeit ausüben. Sie lassen sich auch nicht stören, wenn man ein Glasplättchen vor sie hält oder eine kleine Glasglocke über sie stülpt. Dabei fällt auf, daß diese Fächler nur an sonnenbeschienenen Stellen stehen. Auch bei Bestrahlen der Beute mit Rotlicht finden sie sich ein, selbst wenn der Wärmehaushalt des Volkes ungestört ist. In der Umgebung solcher Fächler wurden die Temperaturen sowohl bei Sonnen- als bei Rotlichteinstrahlung thermoelektrisch gemessen. Um die Strahlung in ihrer spezifischen Wirkung auf den Bienenkörper möglichst genau zu erfassen, wurde das verwendete Thermoelement in den ausgetrockneten Panzer einer Biene gesteckt. Die Wärmeabgabe der lebenden Biene ist durch Atmung und damit verbundene Wasserverdunstung allerdings größer. Im Gegensatz zu den Messungen in der Fächlerkette, wo an kühlen Tagen bei künstlichem Reiz stellenweise Temperaturen von nur etwas über 30° C gemessen wurden, liegen die Werte hier zwischen 40 und 50° C, also in Bereichen, die auch der Einzelbiene nicht mehr zuträglich sind. Es ist daher anzunehmen, daß es sich bei der Tätigkeit dieser Fächler um eine Reaktion auf die vom Einzelwesen als ungünstig empfundene Temperatur handelt. Vermutlich würde nicht nur Wärmestrahlung, sondern auch eine entsprechend hohe Lufttemperatur das Fächeln auslösen. Obwohl diese Temperatureinwirkung primär nur das Einzelwesen betrifft, tritt die Reaktion doch nur in der nächsten Umgebung des Volkes auf. Ob dabei eine räumliche Bindung oder der geruchliche Kontakt mit dem Volke eine Rolle spielt, kann hier nicht entschieden werden. Um die Auswirkung eines besonderen „Fächelduftes" dürfte es sich aber nicht handeln, da diese Fächler, wie ja schon erwähnt, auch auftreten, wenn die thermische Lage des Volkes normal ist. Im weiteren Zusammenhang der Arbeit soll auf diese Einzelfächler nicht mehr eingegangen werden.

Die Erscheinung der Fächlerketten legt den Schluß nahe, daß der durch das Flugloch austretende Luftstrom bei den außerhalb des Kastens stehenden Bienen das Fächeln auslöst. Ist das der Fall, so müßte es möglich sein, Bienen in einem künstlichen Luftstrom, der die wesentlichen Eigenschaften des natürlichen Stromes hat, zum Fächeln zu bringen. Diese Annahme wurde ausführlich geprüft.

C. Die Eigenschaften des natürlichen Fächelstromes

Wenn ein künstlicher Luftstrom die Bienen täuschen soll, so muß er in seinen physikalischen und chemischen Eigenschaften dem natürlichen Fächelstrom möglichst ähnlich sein. Durch Variation der Eigentümlichkeiten eines solchen Stromes kann die auslösende Bedeutung der einzelnen

Faktoren ermittelt werden. Es galt jedoch zuerst einmal, den Fächelstrom zu untersuchen, und so die Voraussetzungen für die Erzeugung eines künstlichen Luftstromes zu schaffen. Es kommen folgende Eigenschaften in Frage: Strömungsgeschwindigkeit und -richtung; Temperatur des Luftstromes; Schwingungsfrequenz, bedingt durch den Flügelschlag der Fächler; chemische Eigenschaften.

Die chemischen Eigenschaften des natürlichen Fächelstromes, Gehalt an CO_2, O_2, Wasserdampf, Volksduft und eventuelle spezifische Duftbeimischungen, wurden nicht untersucht. Bei den Versuchen mit künstlicher Luftströmung (S. 622ff.) wurde gewöhnlich Stockluft verwendet, so daß die chemische Zusammensetzung den natürlichen Verhältnissen entsprach. (Über den Einfluß der chemischen Zusammensetzung s. S. 627.)

Alle folgenden Untersuchungen wurden an einem 5-Waben-Ableger gemacht, der am Nordfenster eines Zimmers stand. Die Temperatur stieg hier nie so weit an, daß es aus natürlichem Anlaß zum Fächeln gekommen wäre. Die Beute (s. Abb. 3), deren Boden entfernt und durch Drahtgaze ersetzt war, stand auf einem Holzkasten mit zwei 40-Watt-Glühlampen. Um die Wärme besser auf die gesamte Beuteunterseite zu verteilen, war der untergesetzte Kasten mit einer Blechplatte bedeckt, auf der eine 1 mm starke Asbestpappe lag. Die Fugen zwischen Heizkasten und Beute waren durch Schaumgummi abgedichtet. Um den Wärmereiz zu steigern, wurde das Fluglochgebiet häufig noch mit Rotlicht angestrahlt, das aber vor Messungen stets abgeschaltet wurde.

1. Geschwindigkeit und Richtung des Fächelstromes

Es wurde ein für diese Zwecke entwickeltes Anemometer verwendet. In einem kurzen, durchsichtigen Rohrstück (2 cm lang, 1 cm ∅) ist ein sehr leicht bewegliches Stanniolfähnchen aufgehängt, das etwa $^3/_4$ des Rohrquerschnittes absperrt. Die Abweichung dieses Fähnchens aus der Ruhelage kann auf einem Maßstab mit einer Lupe abgelesen werden. Das Meßrohr ist an einem kleinen Stativ befestigt, an dem seine Höhe über dem Flugbrett und seine Neigung gegen die Waagrechte bestimmt werden kann. Geeicht wurde das Gerät mit einem Luftstrom, dessen Stärke mit einem Rotameter gemessen wurde.

Messungen in der reizfreien Zeit ergaben keine irgendwie geordnete Strömung. Das Fähnchen des ins Flugloch gestellten Anemometers flatterte unruhig hin und her; in den seitlichen Teilen des Flugloches hing es meist bewegungslos. Diese Beobachtung bestätigt die Ansicht von Büdel (1957), daß der Luftaustausch der normalen Beute durch Turbulenz am Flugloch erfolgt. Welche Vor- und Nachteile diese Form des Luftaustausches gegenüber dem in einer Beute mit Querlüftung (Flugloch unten, Luftlöcher im Deckel) hat, soll hier nicht erörtert werden. Bei

dieser Beutenform kommt es durch die Wärme des Bienen- und Brutkörpers zu einer Schornsteinwirkung, so daß die Frischluft durch das Flugloch eintritt und durch die Luftlöcher im Deckel entweicht (Hazelhoff 1954, Wohlgemuth 1957).

Sobald bei einem Wärmereiz Fächler auftreten, ist hinter diesen eine deutliche Luftströmung meßbar. Die Luft streicht mit leichter Tendenz nach oben (10—20°) flach über das Flugbrett und erreicht in 10 mm Höhe über diesem das Geschwindigkeitsmaximum von 1,8—2 m/sec (20 mm hinter dem Fächler gemessen). Sowohl über wie unter dieser Höhe nimmt die Strömungsgeschwindigkeit rasch ab. In 20 mm Höhe ist die Verwirbelung mit der ruhenden Luft schon so stark, daß keine exakte Geschwindigkeitsmessung mehr möglich ist. Auch in den seitlichen Lücken zwischen den Fächlern ist die Strömung turbulent.

2. Temperatur

Die Temperaturen wurden mit einem Thermoelement bestimmt. Es wurde die Lufttemperatur möglichst nahe an den Fühlern der Fächler gemessen. Den Fühlern, die nach Heran (1952) die wichtigsten Träger von Temperaturreceptoren bei der Honigbiene sind, dürfte eine besondere Bedeutung zukommen. Die Meßergebnisse schwanken in weiten Grenzen zwischen 31,0 und 40,4° C. Am häufigsten wurden Werte zwischen 35 und 36° C ermittelt.

3. Schwingungsfrequenz

Der Fächelstrom wird durch die rhythmisch schlagenden Flügel erzeugt. Es muß sich demnach die Schlagfrequenz in einer Schwingung der Luft des entstehenden Fächelstromes ausdrücken. Die Schlagfrequenz ist als Ton (Fächelton) wahrnehmbar.

Der Fächelton wird von Hansson (1945) mit durchschnittlich 215 Hz (196—240 Hz) angegeben. Er machte die mit einem Mikrophon aufgenommenen Töne auf dem Schirm eines Oszillographen sichtbar und schätzte die Frequenz. Dieses Verfahren ist in der vorliegenden Arbeit noch dadurch vervollkommnet, daß der Fächelton zuerst mit einem Tonbandgerät festgehalten wurde. Die wesentlichen Abschnitte der Tonbandaufnahmen konnten beliebig oft als Kathodenstrahloszillogramme beobachtet und zur Ausschaltung von Fehlern bei der Beurteilung des Schirmbildes mit Hilfe der Oszillographenkamera aufgenommen werden (s. S. 637). An dieser Stelle sei nur hervorgehoben, daß die Schwingungskurve deutlich zweigipflig ist und eine Frequenz von durchschnittlich 120 Hz hat. Zur Kontrolle wurden die Magnettonaufzeichnungen noch mit einem Elektroencephalographen (System Schwarzer) geschrieben, wobei sich das gleiche Bild ergab. Die Zeitkonstanten aller benutzten Geräte wurden überprüft. In anderem Zusammenhange (s. S. 630ff.) wurden Zeitdehner-Aufnahmen (4000 B/sec) von fächelnden Bienen eines anderen Volkes gemacht. Auch bei dieser

völlig abweichenden Methode wurden Flügelschlagfrequenzen zwischen 120 und 130 Hz, im Extremfalle 150 Hz, bestimmt, so daß die angegebenen Werte als gesichert gelten können.

Die Ursache für das starke Abweichen der Hansson'schen Werte ist nicht zu erklären. Rassenbedingte Unterschiede scheiden bei dem Verhältnis von 5:3 für die von HANSSON ermittelten und die hier angegebenen Werte wohl aus. Für die beschriebenen Versuche wurden Krainer Bienen verschiedener Völker verwendet, HANSSON macht keine Angaben über die Rassenzugehörigkeit seiner Völker, doch dürfte es sich um die Nordische Biene gehandelt haben. Die Doppelgipfligkeit der Schwingungskurve legt die Vermutung nahe, HANSSON habe diesen Charakter der Kurve nicht erkannt und daher die Frequenz verdoppelt angegeben.

D. Das Fächeln im künstlichen Luftstrom

Nachdem die im natürlichen Fächelstrom vorkommenden physikalischen Werte (Strömungsgeschwindigkeit 2 m/sec, Temperatur 31—40°C, Schwingungsfrequenz 120—150 Hz) bekannt waren, galt es, eine Anlage zu entwickeln, mit der es möglich war, eine ähnliche Strömung zu erzeugen, und die es erlaubte, die oben genannten Werte in gewissen Grenzen zu verändern, um ihre Wirkung als Fächelreiz zu erkennen.

1. Versuchsanlage (Abb. 3)

Die Luft wird von einer über einen elektrischen Widerstand regelbaren Turbine (*T*) aus der Beute (*K*) oder im Freien angesaugt und über ein Rotameter (*R*) in einen Behälter (*B*) gedrückt. Hier wird die Luft mit einem Heizaggregat (*H*) erwärmt. Gleichzeitig dient der Behälter als Puffer, um aus der Turbine stammende Schwingungen zu vernichten. Die Luft strömt weiter in den zur Schallseite hin verschlossenen Konus eines Lautsprechers (*L*) und von dort durch einen kurzen, unelastischen PVC-Schlauch zur Austrittsstelle (*A*). Eine 6×2 cm große Zellonplatte (*P*) hält den natürlichen Fächelstrom ab (s. S. 623). Der Lautsprecher wird mit einem Tongenerator (*TG*) in der dort eingestellten Frequenz in Schwingungen versetzt, die sich der durchströmenden Luft mitteilen. Im Gegensatz zur Schwingung des natürlichen Fächelstromes ist die dem Luftstrom vom Tongenerator aufgegebene Schwingung primär sinusförmig. Um auch die Wirkung des natürlichen Fächeltones zu prüfen, wird bei entsprechenden Versuchen der Lautsprecher auf die Zweitlautsprecher-Buchsen eines Tonbandgerätes (*TB*) umgeschaltet, auf dem ein zur Schleife geklebtes Band mit natürlichem Fächelton (120 Hz) umläuft. Leider gestattet es die Konstruktion des Tonbandgerätes nicht, die Bandgeschwindigkeit und damit die Frequenz des Fächeltones in gewünschter Weise zu verändern. Die Ausgangsspannung der Tongeber ist in allen Versuchen gleich groß.

2. Versuchsverlauf

Für alle Versuche wurde das gleiche Volk in dem auf S. 620 beschriebenen Kasten verwendet, an dem auch die Messungen des natürlichen Fächelstromes durchgeführt worden waren. Dem Volk wurde durch die Bodenheizung ein Wärmereiz gegeben, bis genügend Fächler auf dem Flugbrett standen. Dann wurde die Austrittsöffnung für den Luftstrom, meist etwas seitlich, auf das Flugbrett gelegt und beobachtet, ob sich eine Biene vor dieser zum Fächeln aufstellte. Da es häufig ziemlich

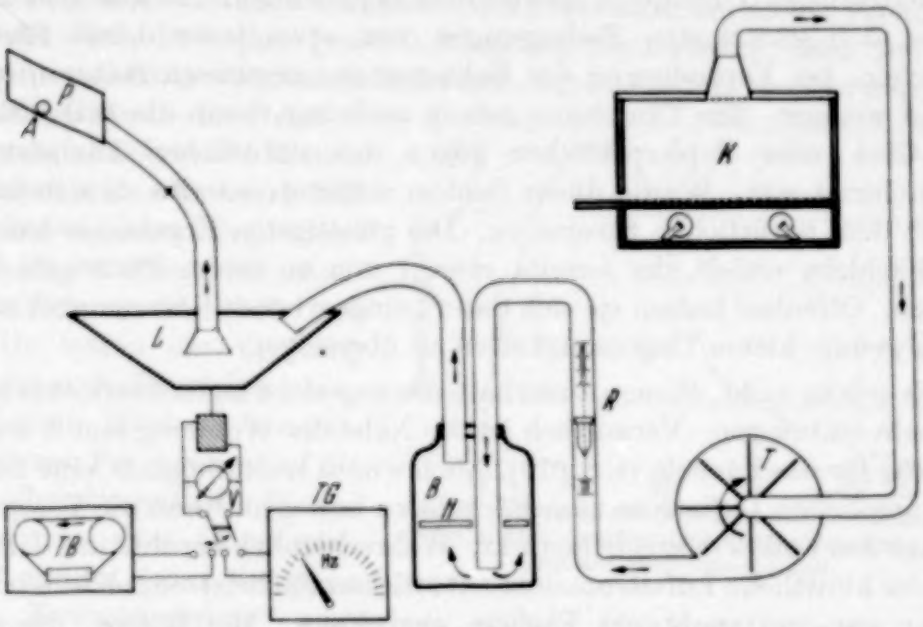


Abb. 3. Versuchsanlage: *A* Austrittsöffnung des Luftstromes; *B* Schwingungspuffer; *H* Heizaggregat; *K* Bienenkasten; *L* Lautsprecher; *P* Zellonplatte; *R* Rotameter; *T* Turbine; *TB* Tonbandgerät; *TG* Tongenerator; *V* Voltmeter

lange dauerte, bis sich eine Biene einfand, wurden meist mit dem Ausströmrohr die vordersten Glieder einer Fächlerkette aus ihrer Stellung gedrängt und beobachtet, ob die übrigen Fächler der Kette, meist war es nur noch die letzte Biene, ihre Tätigkeit fortsetzten. Wenn sich mindestens 1 min lang keine Störung zeigte, galt der Versuch als positiv. Daß der Fächler tatsächlich auf den Luftstrom eingestellt war, ließ sich durch langsames Hin- und Herbewegen des Ausströmrohres zeigen. Die Biene folgte diesen Bewegungen durch gleichsinniges Pendeln mit dem Kopfe. Auch bei langsamem seitlichem Verschieben des Luftstromes rückte der Fächler nach.

Der Abstand zwischen der Ausströmöffnung und dem Kopf des Fächlers mußte 2—$2^1/_2$ cm betragen. Bei geringerer Entfernung wurde die Biene unruhig und rückte, ihre Tätigkeit häufig kurz unterbrechend, bis zur Austrittsöffnung vor, deren Ränder sie mit den Fühlern untersuchte. Nach der Kontrolle verließ die Biene den Ort, um sich gegebenenfalls

eine andere Fächelstelle zu suchen. Dieses Verhalten zeigte sich bei allen Versuchen. Vermutlich traten durch die Form der Ausströmöffnung und ihren relativ geringen Querschnitt (6 mm) störende Randwirbel auf. Da sich der Luftstrom nach seinem Austritt aus dem Rohr trichterförmig verbreiterte, wirkten die Randwirbel in einiger Entfernung weniger störend. Nun kann man zwar auch in einer Fächlerkette keine einfache Strömung erwarten, doch ist die Art der Verwirbelung sicher anders als im vorliegenden Falle. Überhaupt zeigte es sich, daß es nicht gelang, die natürlichen Umstände einwandfrei herzustellen. So ließ sich auch unter den günstigsten Bedingungen nur etwa jeder dritte Fächler täuschen, bei Veränderung der Faktoren zur negativen Seite entsprechend weniger. Die Täuschung gelang auch nur, wenn die Biene durch ein Glas- oder Papierplättchen gegen den natürlichen Fächelstrom abgeschirmt war. Wurde dieser Schirm entfernt, wandte sie sich meist sofort dem natürlichen Strome zu. Die günstigsten Ergebnisse wurden bei Fächlern erzielt, die bereits etwa 1 min an ihrem Platz gefächelt hatten. Offenbar hatten sie sich dann „eingearbeitet", waren aber noch eifrig genug, kleine Ungenauigkeiten zu übersehen.

Es gelang nicht, Bienen außerhalb des engeren Fluglochbereiches zum Fächeln zu bringen. Vermutlich ist die Nähe der Wohnung eine Voraussetzung für das Fächeln (s. S. 619). Auch war es nicht möglich, eine Biene im künstlichen Luftstrom zum Fächeln zu bewegen, wenn die Temperaturlage des Volkes ausgeglichen war. Wahrscheinlich beruhte das darauf, daß der künstliche Luftstrom dem natürlichen Fächelstrom nicht ähnlich genug war, um spontanes Fächeln auszulösen. Die Bienen, die sich während eines Wärmereizes freiwillig vor der Öffnung aufstellten, dürften schon durch Kontakt mit anderen Fächlern von der Lage unterrichtet und auf der Suche nach einem geeigneten Fächelplatz gewesen sein.

3. Wirkung der Einzelfaktoren

a) Schwingungsfrequenz. Die dem Luftstrom aufgeprägte Schwingungsfrequenz war für seinen Reizwert von entscheidender Bedeutung. Mit einem kontinuierlichen oder in seiner Frequenz stark von dem natürlichen abweichenden Luftstrom gelang es trotz vielseitiger Veränderung aller anderen berücksichtigten Faktoren in keinem Falle, eine positive Reaktion auszulösen. Deshalb soll diese Eigenschaft des Luftstromes zuerst besprochen werden.

Während der Versuchsreihe wurden alle anderen Faktoren, um die Wirkung der Schwingung beurteilen zu können, den natürlichen Verhältnissen möglichst angeglichen, indem Stockluft, eine Strömungsgeschwindigkeit von etwa 2 m/sec und eine Temperatur von etwa 35° C geboten wurden. Entsprechendes gilt für den weiter unten beschriebenen

Einfluß dieser Faktoren auf die Fächelbereitschaft. Für den Vergleich sind die Unterschiede in der Reaktionsbereitschaft der Bienen hinderlich, doch war es möglich, einen bevorzugten Frequenzbereich mit ausreichender Sicherheit zu erkennen.

Sinusförmige Schwingungen. Mit dem Tongenerator erzeugte sinusförmige Schwingungen mit Frequenzen zwischen 100 und 300 Hz wurden geprüft (100, 120, 140, 160, 180, 200, 250 und 300 Hz). Die günstigsten Ergebnisse waren bei 140 und 160 Hz zu verzeichnen. 120 und 180 Hz erwiesen sich als merklich schlechter, doch war auch bei diesen Frequenzen mit Sicherheit eine positive Reaktion festzustellen. Bei 200 Hz konnte nur in einigen Fällen, jedoch eindeutig ein Fächeln erreicht werden. Bei 250 Hz war die Beurteilung sehr unsicher. Die Bienen fächelten nur sehr kurze Zeit und liefen dann weg, meist nach Kontrollen der Ausströmöffnung. Bei 100 und 300 Hz waren die Versuche in keinem Falle erfolgreich.

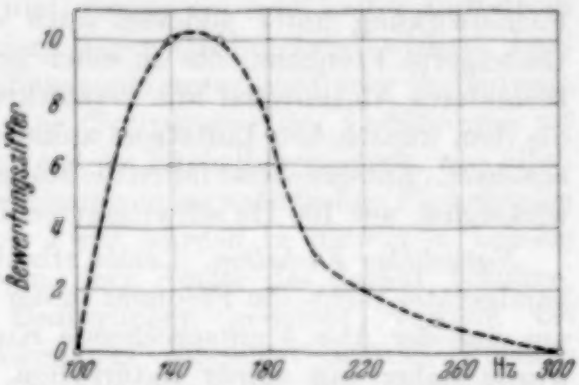


Abb. 4. Wirkung der dem künstlichen Luftstrom aufgeprägten sinusförmigen Schwingungsfrequenz auf die Fächelbereitschaft

Um die Wirkung der verschiedenen Frequenzen auf die Fächelbereitschaft der Bienen zu verdeutlichen, ist es vielleicht erlaubt, jeder Frequenz eine „Bewertungsnote" zu geben, wobei „10" das Optimum, „1" eine gerade noch erkennbare Reaktion bedeutet. Natürlich ist eine gewisse Unsicherheit in der Zuteilung einer bestimmten Bewertungsziffer nicht auszuschließen, doch wird dadurch der Kurvenverlauf (Abb. 4) nicht grundsätzlich verändert. Jedem Punkt aus dem Mittelteil der Kurve (120—180 Hz) liegt die Beobachtung von je etwa 30 bis 50 Bienen in 4—6 Versuchsreihen zugrunde. Die übrigen Frequenzen wurden wegen ihrer geringeren Bedeutung nicht so ausführlich geprüft, jedoch wurden auch bei den beiden Grenzfrequenzen 100 und 300 Hz noch 50—70 Bienen untersucht, so daß für jeden Kurvenpunkt eine verläßliche Aussage gemacht werden kann. Wie schon erwähnt, reagierte auch bei den Optimalfrequenzen von 140 und 160 Hz nur $^1/_3$ der Bienen positiv. Demnach wurde bei jeder der beiden Frequenzen bei etwa 70 Tieren ein Weiterfächeln im künstlichen Luftstrome erreicht. Für die anderen untersuchten Frequenzen ergaben sich entsprechend niedrigere Anteile. So beantworteten bei 250 Hz von rund 70 Bienen nur 3—4 den künstlichen Fächelreiz positiv. Abgesehen von der Häufigkeit einer positiven Antwort, drücken die Bewertungsziffern auch die Art der Reaktion, insbesondere ihre Zeitdauer, aus. Mit den Optimalfrequenzen

konnte im Durchschnitt eine Fächeldauer von 2—3 min erreicht werden. Die längste Fächeldauer von 8 min ergab sich bei 140 Hz. Bei den anderen Frequenzen fächelten die Bienen im Durchschnitt kürzere Zeit, doch wurden auch bei diesen ausnahmsweise Fächelzeiten bis zu 5 min erzielt.

Die Kurve (Abb. 4) läßt zweierlei erkennen: einmal, daß der Abfall zur niederen Frequenz viel steiler ist als zur höheren, und weiter, daß das Optimum bei Frequenzen liegt, die das nur selten erreichte Maximum im normalen Fächelstrom darstellen. Beide Erscheinungen dürften die gleiche Erklärung finden: Man kann wohl annehmen, daß in bedrohlichen Situationen, ausgehend von den Bienen im Brutnest, zur Steigerung der Fächelwirkung unter anderem auch die Schlagfrequenz erhöht wird. Gesteigerte Frequenz, bis zu einer gewissen Grenze, ist demnach ein besonderes Alarmsignal mit verstärkter Reizwirkung. Kleine Mängel, die dem künstlichen Luftstrom anhaften, werden in diesem Falle nicht beachtet. Entsprechend fallen die Mängel bei einem schon an sich schwach wirkenden, mit 100 Hz schwingenden Luftstrom besonders ins Gewicht.

Natürlicher Fächelton. Leider erlaubte es die Konstruktion des Tonbandgerätes nicht, die Frequenz in der gewünschten Weise zu variieren, um eine der Abb. 4 entsprechende Kurve aufzustellen. Der Fächelton wurde daher mit seiner natürlichen Frequenz von 120 Hz, genauer 117,9 Hz, abgestrahlt. Die Bienen reagierten gut, etwa so wie auf einen sinusförmig schwingenden Luftstrom von 140 oder 160 Hz, so daß der natürliche Fächelton nach vorstehender Bewertung die Note „10" erhielt. Ohne Zweifel ist der Fächelton wirksamer als der entsprechende sinusförmig schwingende Luftstrom von 120 Hz. Offenbar wird also auch die Form der Schwingung von den Fächlern beachtet.

b) Strömungsgeschwindigkeit. Das Rotameter erlaubte eine Messung des Luftstromes bis zu 100 ml/sec, was etwa auch der Leistungsfähigkeit der Turbine bei den gegebenen Widerständen entsprach. Den natürlichen Verhältnissen kam ein Luftstrom von 80 ml/sec nahe, entsprechend einer Strömungsgeschwindigkeit von knapp 3 m/sec an der Ausströmöffnung. In 2—$2^1/_2$ cm Entfernung, dem Abstand des Kopfes der Fächlerin, wurden knapp 2 m/sec gemessen. Wurde die Strömungsgeschwindigkeit gesenkt, so rückten die Bienen näher an die Ausströmöffnung heran. Im allgemeinen wurden sie aber sehr schnell unruhig und gaben, meist nach Kontrolle der Austrittsöffnung, ihre Tätigkeit auf, weil sie in die Wirbelzone des Strömungstrichters kamen. Offenbar wird demnach von den Fächlern eine Mindestströmungsgeschwindigkeit von 2 m/sec angestrebt.

Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit bis an die technisch mögliche Grenze (3,5 m/sec an der Austrittsöffnung) ergab keine Veränderung.

Es war dann möglich, Bienen schon auf gut 3 cm Abstand zum Fächeln zu bringen, doch fächelten sie ebensogut im üblichen Abstand von 2—2½ cm. Man könnte erwarten, daß bei etwas höherer Strömungsgeschwindigkeit die Fächelbereitschaft größer ist, doch läßt sich bei der Unsicherheit der Reaktion ein Urteil darüber nicht fällen.

c) Temperatur des Luftstromes. Die Temperatur des Luftstromes betrug, an der Ausströmöffnung gemessen, zwischen 18 und 45° C. Bis zum Standpunkt des Fächlers glich sich die Temperatur etwas an die der umgebenden Luft an, wodurch die wirksame Temperatur am Kopf der Fächlerin zwischen 22 und 40° C lag. Innerhalb dieses Bereiches war kein Einfluß auf die Fächelbereitschaft festzustellen. Natürlich ist zu erwarten, daß ein sehr warmer und ebenso ein sehr kalter Luftstrom nicht nur wirkungslos sind, sondern sogar abschreckend wirken, doch erschien es in unserem Zusammenhange von untergeordneter Bedeutung, diesen Grenzwert festzustellen. Die Temperatur des Luftstromes ist demnach weitgehend ohne Einfluß auf die Fächelbereitschaft, was allerdings schon nach den Temperaturmessungen im natürlichen Fächelstrom (31,0—40,4° C) zu erwarten war. Zwar wurden in diesem in keinem Falle Werte unter 30° C gemessen, doch dürfte das darauf beruhen, daß diese Messungen unter Bedingungen gemacht wurden, bei denen das Fächeln durch Wärmereiz ausgelöst wurde. Fächeln wird jedoch nicht nur durch Überhitzung veranlaßt, sondern auch durch ungünstige chemische Veränderungen der Beuteluft, also durch Ereignisse, die den Wärmehaushalt nicht zu stören brauchen. So berichtet Hazelhoff (1954), daß er ein Bienenvolk durch Einleiten von CO_2 in die Beute zum Fächeln brachte. Dabei schwankte die Temperatur im Flugloch zwischen 26,1 und 26,7° C, die Zahl der hier stehenden Fächler zwischen 7 und 10. Auch vor dem Flugloch standen bei einer Außentemperatur von 16,6—17,3° C noch bis zu 5 Fächler.

d) Einfluß des Volksgeruches. Die aus der Beute gefächelte Luft enthält das für ein Bienenvolk typische Duftgemisch. Erfahrungsgemäß fächeln Bienen nur in der Nähe des Stockes, was darauf zurückgeführt werden könnte, daß dieses Duftmilieu eine Voraussetzung des Fächelns ist.

Um diese Frage zu prüfen, wurde Beuteluft und Luft aus der Umgebung, etwa 1,5 m vom Flugloch entfernt, angesaugt und deren Wirkung verglichen. Die Stockluft wurde durch den Futterspund im Deckel des Kastens (Abb. 3) entnommen. Da der Versuch jedoch nur im Bereiche des Flugloches stattfinden konnte (s. S. 624), ließ sich eine Vermischung des Luftstromes mit der umgebenden, Volksduft enthaltenden Luft trotz möglichst sorgfältiger Abschirmung des Fächlers nicht ganz verhindern. Die Versuchsvoraussetzungen waren also nicht voll zu erfüllen. Auch ist die bei Dauerreizen sehr schnell eintretende Geruchsadaptation schwer abzuschätzen.

Das Ergebnis des Vergleiches der Stockluft mit duftfreier Luft ist unsicher. Positive Reaktion war in beiden Fällen zu erzielen. Es hatte den Anschein, als ob bei Verwendung von Beutenluft der Erfolg besser sei, doch war dieser Unterschied bei der Unsicherheit im Verhalten der Fächler so gering, daß er nicht gesichert ist.

4. Rückblick

Die beschriebenen Untersuchungen haben gezeigt, daß es möglich ist, Bienen durch einen dem natürlichen Fächelstrom nachgebildeten Luftstrom im Bereich ihres Stockes zum Fächeln zu bringen. Wesentlich für die Wirkung des Luftstromes ist vor allem eine Schwingungsfrequenz (120 bzw. 140—160 Hz), die der im natürlichen Fächelstrom durch den Flügelschlag entstehenden möglichst ähnlich ist. Der Luftstrom muß eine bestimmte Geschwindigkeit von etwa 2 m/sec haben, seine Temperatur ist innerhalb gewisser Grenzen unwesentlich. Die Bedeutung des Volksduftes konnte nicht sicher beurteilt werden, doch wirkt er sich auf die Fächelbereitschaft anscheinend günstig aus, was die Beschränkung dieser Tätigkeit auf die Umgebung des Stockes erklären könnte.

E. Das Alter der fächelnden Bienen

Das Fächeln ist nicht wie Brutpflege, Wachdienst, Sammeln usw. eine Tätigkeit, die dauernd im Leben des Volkes erforderlich ist, sondern sie wird nur gelegentlich nach Bedarf ausgeübt. Es erscheint daher wissenswert, ob für diese Arbeit eine bestimmte Altersgruppe besondere Neigung zeigt.

Über das Alter fächelnder Bienen waren in der Literatur nur spärliche Angaben zu finden. So berichtet LINDAUER (1952), der eine Biene bis zum 8. Lebenstage ununterbrochen beobachtete, daß sie bereits vom 2. Tage an täglich ein paar Minuten (vermutlich innerhalb des Stockes) fächelte.

Am 29. 5. 59 wurden einem 5-Waben-Ableger 1000 im Brutschrank zwischen dem 28. 5., 9^{00} Uhr und dem 29. 5., 9^{00} Uhr geschlüpfte, gezeichnete Bienen zugesetzt. Am Tage vorher war dem Volke eine Wabe mit gedeckelter Brut entnommen worden, um die Störung im Altersaufbau des Volkes möglichst wieder auszugleichen. Vom 31. 5. bis zum 8. 7. wurde dem Volke täglich, mit Ausnahme des 18. 6. und 22. 6., um die Mittagszeit ein Wärmereiz gegeben und alle 5 min die im Flugloch und auf dem Flugbrett sichtbaren Fächler nach gezeichneten und ungezeichneten (n = 100—400) ausgezählt. Dabei wurde ein Fächler also mehrmals erfaßt, wenn er während mehrerer Zählungen tätig war.

Das Ergebnis des Versuches ist in Abb. 5 dargestellt. Die ersten drei gezeichneten Fächler konnten am 3. 6., also am 7. Lebenstage, beobachtet werden. Bis zum 20. Lebenstage beteiligten sich die gezeichneten Bienen

nur selten und dann in geringem Prozentsatz am Fächeln. Mit dem 21. Tage, dem Zeitpunkt des Überganges von der Stock- zur Flugbiene, erhöhte sich ihr Anteil sprunghaft, blieb relativ hoch bis zum 29. Tage und sank dann bis zum Versuchsende langsam ab. Bei der Beurteilung des Diagrammes muß man berücksichtigen, daß die Zahl der gezeichneten Bienen gegen Versuchsende stark abnahm. Bis zum Übergang zum Flugbienenalter konnte der Abgang einigermaßen sicher an den vor dem

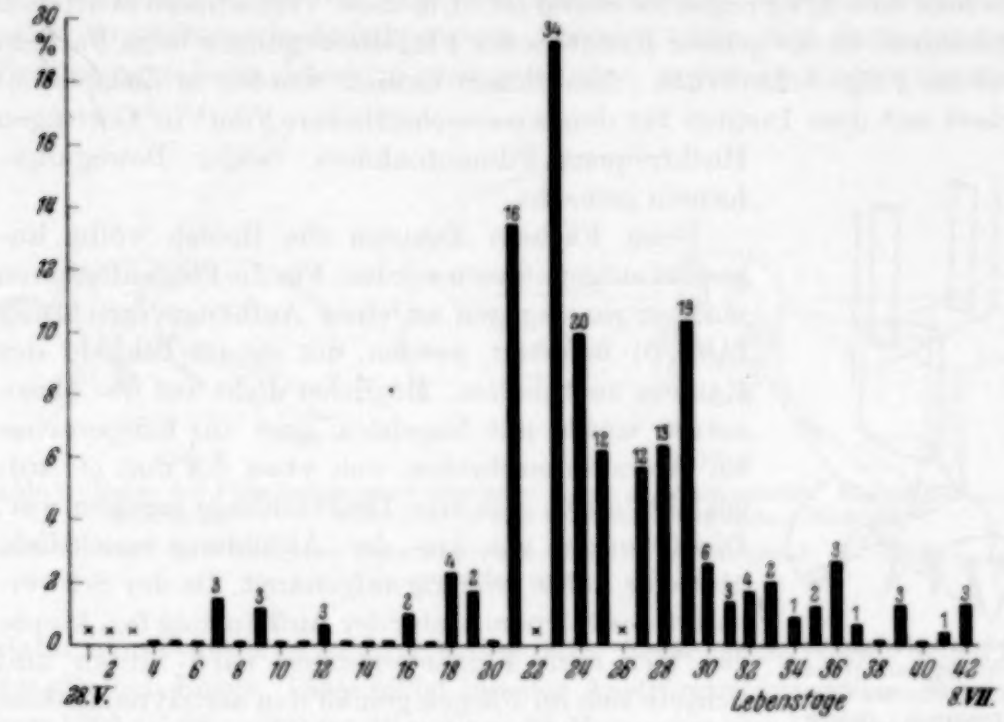


Abb. 5. Prozentualer Anteil der gezeichneten Bienen an den vor dem Flugloch stehenden Fächlern in Abhängigkeit vom Lebensalter. Die Ziffern über den Säulen geben die absolute Zahl der beobachteten gezeichneten Bienen an. X Versuch ausgefallen

Flugloch liegenden gezeichneten Toten beurteilt werden. Der Totenfall an gezeichneten Bienen, im ganzen etwa 30, war sehr gering, so daß schätzungsweise 90% das Flugbienenalter erreicht haben dürften. Erfahrungsgemäß steigt aber die Verlustrate nach Übergang zur Sammeltätigkeit sehr stark an, und gegen Ende des Versuches waren kaum noch gezeichnete Bienen zu sehen. Obwohl am 7. und 8. 7. höchstens noch 100 Versuchsbienen lebten, betrug ihr Anteil an den vor dem Flugloch stehenden Fächlern noch 0,5 bzw. 1,4%.

Die Fächeltätigkeit außerhalb der Beute wird demnach vorzugsweise von den Flugbienen ausgeübt. Es ist nach den Beobachtungen von Lindauer (1952) zu vermuten, daß das Fächeln innerhalb des Stockes vorwiegend von den Jungbienen besorgt wird. Wahrscheinlich handelt es sich beim Fächeln um eine Tätigkeit, die zwar während der ganzen

Lebensdauer ausgeübt wird, bei der jedoch eine räumliche Arbeitsteilung zwischen den Altersklassen besteht, doch bleibt die Bestätigung dieser Annahme weiteren Untersuchungen vorbehalten.

F. Fächel- und Flugbewegung

Beim Fliegen und Fächeln wird der Körper durch den Flügelschlag relativ zur umgebenden Luft bewegt. Man könnte folgern, daß das Fächeln eine Art Fliegen im Stand ist. Um diese Verhältnisse beurteilen zu können, ist die genaue Kenntnis der Flügelbewegungen beim Fächeln und im Fluge erforderlich. Aus diesem Grunde wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für den wissenschaftlichen Film[1] in Göttingen Hochfrequenz-Filmaufnahmen beider Bewegungsformen gemacht.

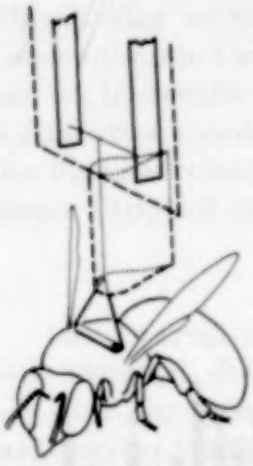


Abb. 6. Aufhängevorrichtung mit Windschirm für die Filmaufnahmen fliegender Bienen

Beim Fächeln konnten die Bienen völlig ungestört aufgenommen werden. Für die Flugaufnahmen mußten sie dagegen an einer Aufhängevorrichtung (Abb. 6) befestigt werden, um sie im Bildfeld der Kamera zu behalten. Möglichst dicht auf das Mesonotum wurde mit Nagellack quer zur Körperachse ein Aluminiumröhrchen von etwa 0,4 mm ⌀ aufgeklebt, durch das eine Drahtschlinge gezogen war. Diese wurde, wie aus der Abbildung ersichtlich, über eine Achse gelenkig aufgehängt. Da der Schwerpunkt des Körpers hinter der Aufhängung lag, kippte das Tier ohne Flugbewegungen nach hinten und richtete sich im Fliegen gemäß den aerodynamischen Bedingungen auf. Von vorn wurde die Biene aus etwa 30 cm Entfernung angeblasen, und zwar bei den ersten Aufnahmen mit einer einfachen Luftturbine, später mit einem Gebläse, das relativ gute laminare Strömung erzeugte. Durch einen Schirm wurde der Luftstrom von der Aufhängung ferngehalten. Die Windgeschwindigkeit wurde, abgesehen von den ersten Aufnahmen, bei denen der Oberteil der Aufhängung noch nicht drehbar befestigt war, so abgestimmt, daß die Aufhängung senkrecht hing, ein Maßstab für die Übereinstimmung zwischen Strömungsgeschwindigkeit und Fluggeschwindigkeit der Biene.

Die Kamera war auf eine Frequenz von 4000 Bildern/sec eingestellt. Belichtet wurde mit einem Blitzgerät in entsprechender Blitzfolge. Die Leuchtdauer des Einzelblitzes betrug $2 \cdot 10^{-6}$ sec, wodurch Bewegungsunschärfen vermieden wurden. Auf den Filmrand wurden Zeitmarken

[1] Dem Leiter des Institutes für den wissenschaftlichen Film, Herrn Dr.-Ing. WOLF, und seinen Mitarbeitern danken wir für die Unterstützung bei der vorliegenden Arbeit.

in 10^{-3} sec Abstand aufgelichtet, die eine genaue Bestimmung der tatsächlichen Bildfrequenz ermöglichten.

Durch Einzelbildauswertung konnten die Bewegungen schrittweise und zusammenfassend im ganzen verfolgt werden.

1. Flugbewegungen

Die Flügelspitze kennzeichnet am besten die Bahn des Flügels, und ihre Bahnpunkte wurden deswegen aufgezeichnet. Sie beschreibt bei einer Anströmgeschwindigkeit von 3 m/sec unter den herrschenden Bedingungen beim Abschlag eine gestreckte, mehrfach leicht gebogene

Abb. 7

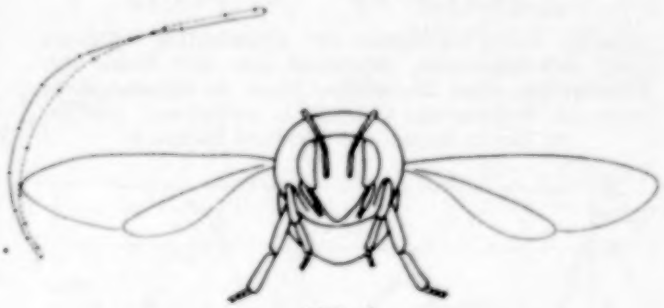


Abb. 8

Abb. 7. Bahn der Flügelspitze einer fliegenden Biene in Seitenansicht. Abschlag ——; Aufschlag — — —. Abb. 7, 8, 13 und 14 haben den gleichen Maßstab

Abb. 8. Bahn der Flügelspitze einer fliegenden Biene in Vorderansicht. Abschlag ——; Aufschlag — — —

Bahn, beim Aufschlag ist diese fast gerade. Beide Schlagphasen liegen in der gleichen Ebene. Diese bildet mit der Anströmrichtung einen Winkel von 129° (+3°, −4°) im Mittel aus 25 Messungen, ist also beträchtlich nach hinten geneigt. Abb. 7 zeigt die Bahn der Flügelspitze in Seitenansicht, Abb. 8 das Entsprechende in Vorderansicht, wobei hervorzuheben ist, daß die Kurven von verschiedenen Tieren stammen. Überschlagsweise beträgt die Abweichung aus der Hauptebene maximal 0,5 mm, die bei einer durchschnittlichen Flügellänge von 9,8 mm für das herangezogene Bienenvolk als gering anzusehen ist. Für die Schlagamplitude φ ergab sich im Mittel aus 26 Messungen ein Winkel von 113° bei einer Schlagfrequenz von 209 Hz. Der Schlagwinkel wurde aus der unmittelbar meßbaren Projektion auf die Filmebene errechnet. Dieser Wert weicht scheinbar von den bei Heran (1959) für die betreffende Geschwindigkeit angegebenen Daten ab. Heran bestimmte seine Winkel aus der Ansicht von vorn, wobei die Neigung der Flügelschlagebene nicht berücksichtigt werden konnte. Eine entsprechende Umrechnung zeigt weitgehende Übereinstimmung.

Aus den Abb. 7 und 8 wurde die Geschwindigkeit der Flügelspitze auf ihrer Bahnkurve bestimmt (Abb. 9 und 10). Beim Abschlag steigt

die Geschwindigkeit schnell auf etwa 8 m/sec an, sinkt bis zur Mitte des Abschlages leicht ab und erreicht dann kurzzeitig 10 bzw. 12 m/sec. Die wechselnde Geschwindigkeit beim Abschlag ist mit dem von BOETTIGER u. FURSHPAN (1952) an Dipteren untersuchten „Klickmechanismus" wahrscheinlich nicht zu erklären, da dieser allein die großen Geschwindigkeitsänderungen in den Umkehrpunkten der Flügelbahn hervorrufen kann. Hier sinkt die Geschwindigkeit nicht auf Null, da die Bahn der Flügelspitze beim Übergang in die andere Schlagphase ausgebaucht ist, wie Abb. 7 zeigt. Im Aufschlage wird schnell eine wesentlich höhere Geschwindigkeit von 15 bis 18 m/sec erreicht, die aber im Gegensatz zum Abschlag schnell wieder absinkt.

Abb. 9. Geschwindigkeit der Flügelspitze während einer Schlagperiode, bestimmt aus der Bahn der Flügelspitze einer fliegenden Biene in Seitenansicht (Abb. 7). Teilung der Abszisse in 1/4050 sec. Abb. 9, 10 und 15 haben den gleichen Maßstab

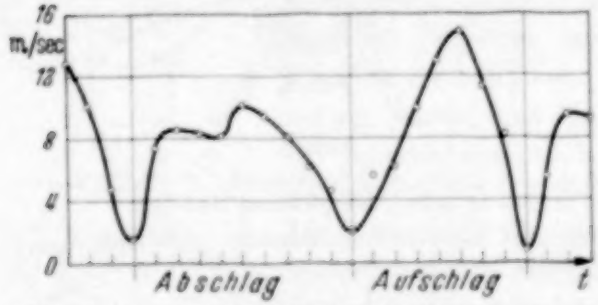


Abb. 10. Geschwindigkeit der Flügelspitze während einer Schlagperiode, bestimmt aus der Bahn der Flügelspitze einer fliegenden Biene in Vorderansicht (Abb. 8). Teilung der Abszisse in 1/4050 sec

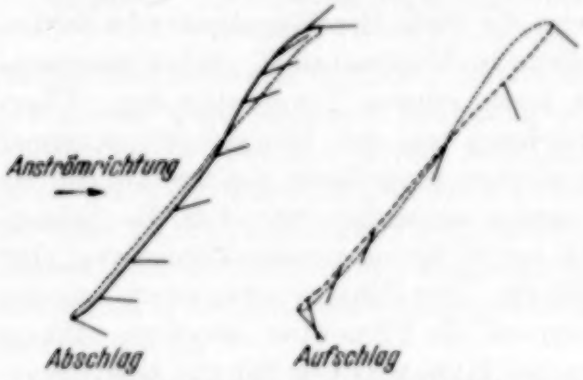


Abb. 11. Anstellwinkel der Flügelfläche im Fluge beim Abschlag (———) und Aufschlag (— — —). Gleicher Maßstab wie Abb. 16

Der Winkel der Flügelfläche zur Richtung des vom Gebläse kommenden Luftstromes wurde aus der perspektivischen Verkürzung der größten Breite des Vorderflügels in Ansicht von vorn bestimmt, wobei gewisse Ungenauigkeiten in Kauf genommen werden mußten. Er änderte sich im Abschlag, wie aus Abb. 11 ersichtlich, in der Anfangs- und Endphase beträchtlich, blieb aber in dem für den Flug wesentlichsten Mittelteil ziemlich gleich. Hier steht der Flügel zu dem Anblaswind, der aus der Luftströmung und dem der Flügelgeschwindigkeit ent-

gegengerichteten relativen Schlagwind resultiert, in einem positiven Anstellwinkel von etwa 15°. Diese Resultierende ist, da die Flügelgeschwindigkeit am breitesten Teil des Flügels etwa doppelt so groß ist wie die Anströmgeschwindigkeit, ziemlich steil nach oben gerichtet, so daß sich für die Mittelphase des Abschlages Vor- und Auftrieb ergibt (Abb. 12a). Im Bereich des unteren Umkehrpunktes kippt der Flügel in eine neue Lage für den Aufschlag. Im Gegensatz zum Abschlag wird der Flügel jetzt ziemlich genau in die Anblasrichtung ausgerichtet (Anstellwinkel $\sim 0^0$) (Abb. 12b). Infolgedessen werden keine Luftkräfte wirksam, und der Flügel wird somit in die Ausgangslage des Abschlages überführt, ohne zur Flugleistung beizutragen.

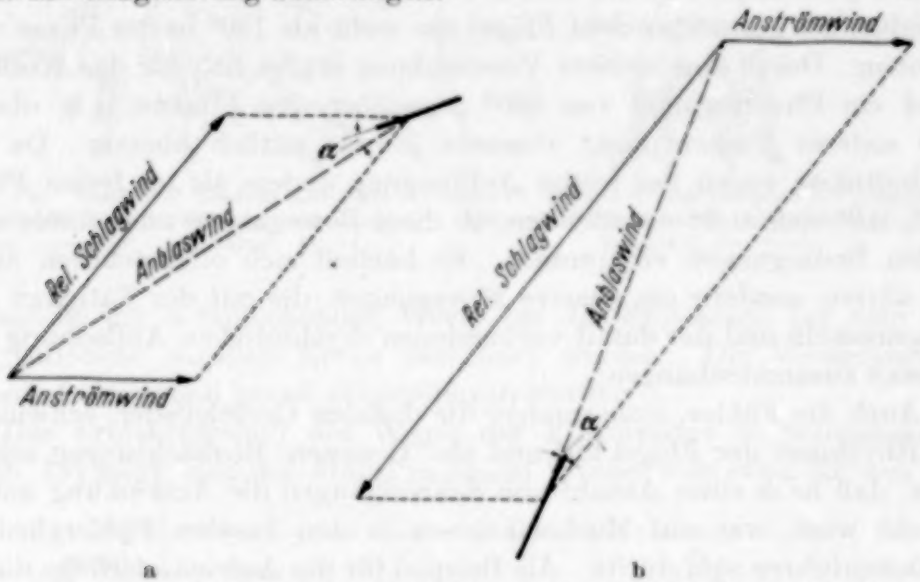


Abb. 12a u. b. Geschwindigkeitsparallelogramm in der Mittelphase des Abschlages (a) und Aufschlages (b)

Die Filmaufnahmen wurden ergänzt durch Momentaufnahmen des freien Fluges vor einem Bienenstand. Im freien Flug, insbesondere nach dem Abflug, zeigen sich die Stellung des Körpers zur Horizontalebene, die Haltung der Beine und die Schlagebene der Flügel so, wie sie aus den Hochfrequenzfilmen beschrieben wurden. Durch die künstlichen Flugbedingungen während der Filmaufnahmen werden demnach die Verhältnisse des freien Fluges nicht entscheidend verändert, so daß die Filme das Fliegen der Bienen im Geradeausflug mäßiger Geschwindigkeit richtig darstellen dürften.

Vor dem Anflug auf das Flugbrett ändern die Bienen in 1,50—0,50 m Entfernung meist ihre Flughaltung. Der Körper wird steiler — bis zu 45° — aufgerichtet und die Beine im Winkel von etwa 90° vom Rumpf abgespreizt. Die Schlagebene der Flügel ist stärker nach hinten, bis zu 170° statt 130° im gewöhnlichen Fluge, geneigt. Hierdurch ändern sich wohl auch die aerodynamischen Verhältnisse. Der früher als leerlaufend

beschriebene Aufschlag könnte jetzt z.B. am Auftrieb teilhaben. In bestimmten Fluglagen, vielleicht besonders beim Steigflug, dürften also beide Schlagphasen aktiv an der Flugleistung beteiligt sein.

Bein- und Fühlerbewegungen während des Fluges. Neben der für den Flug wesentlichen Flügelbewegung zeigten die Filme auch eine Bewegung der Beine und Fühler. Die Beine schwingen im gleichen Rhythmus wie die Flügel relativ zum Rumpf. Es wurden hauptsächlich die verhältnismäßig weiten und daher gut erkennbaren Schwingungen der Hinterbeine ausgewertet. Mittel- und Vorderbeine verhalten sich im ganzen gleich.

Der proximale Teil des ersten Tarsalgliedes in der Nähe des Pollenschiebers ist gegenüber dem Flügel um mehr als 180° in der Phase verschoben. Durch eine weitere Verschiebung ergibt sich für das Krallenglied ein Phasenwinkel von 360° gegenüber den Flügeln, d.h. oberer und unterer Umkehrpunkt stimmen jeweils zeitlich überein. Da die Verhältnisse wegen der festen Aufhängung anders als im freien Fluge sind, läßt sich nicht entscheiden, ob diese Bewegungen auch unter normalen Bedingungen vorkommen. Es handelt sich offensichtlich nicht um aktive, sondern um passive Bewegungen, die mit der Tätigkeit der Flugmuskeln und der damit verbundenen rhythmischen Abflachung des Thorax zusammenhängen[1].

Auch die Fühler, insbesondere die distalen Geißelglieder, schwingen im Rhythmus der Flügel auf und ab. Genauere Beobachtungen zeigen aber, daß nach einer Anzahl von Schwingungen die Auslenkung unterdrückt wird, was auf Muskelaktionen in den basalen Fühlergliedern zurückzuführen sein dürfte. Als Beispiel für die Aufeinanderfolge dieser längeren und etwas unregelmäßigen Perioden seien folgende Reihen angeführt, wobei kursive Ziffern die Anzahl der Flügelschläge bedeuten, während derer die Fühler relativ in Ruhe waren, und die gewöhnlichen Ziffern entsprechend die Perioden des Schwingens angeben.

Biene A: 27, *22*, 12, *8*, 14, *4*, 10, *22*, 17, *10*, 16.

Biene B: 17, *26*, 19, *23*, 11, *11*, 18, *10*, 7, *12*, 7, *7*, 5, *12*.

Auch die Schwingungen der Fühler beruhen wie die der Beine auf der rhythmischen Tätigkeit der Flugmuskeln. Wie dort ist nicht sicher zu beurteilen, ob die Erscheinung in gleicher Weise im normalen, freien Fluge vorkommt[1]. Es ist denkbar, daß die Perioden der relativ starren Stellung des Fühlers der Kontrolle der Fluggeschwindigkeit im Sinne von HERAN (1959) dienen, während in den Perioden der passiven Fühlerschwingungen die Flügelschlagfrequenz perzipiert wird.

[1] Auf neueren Filmaufnahmen, welche die Biene kurzzeitig im Flug zeigen, nachdem sie aus einer Aufhängevorrichtung freigegeben ist, sind die gleichen Bein- und Fühlerschwingungen zu sehen. Die oben ausführlich beschriebenen Vorgänge sind demnach nicht auf die Aufhängung der Biene zurückführen.

2. Fächelbewegungen

Ebenso wie für den Flug wurde auch für das Fächeln die Bahn der Flügelspitze, die Frequenz, die Schlagamplitude, die Flügelgeschwindigkeit und der Anstellwinkel bestimmt. Da kein Fächler genau in Seitenansicht aufgenommen werden konnte, mußten aus einer Schräg-

Abb. 13. Bahn der Flügelspitze einer fächelnden Biene in Seitenansicht. Aufschlag (———); Abschlag (— — —)

Abb.. 14 Bahn der Flügelspitze einer fächelnden Biene in Vorderansicht. Abschlag (———); Aufschlag (— — —)

aufnahme die entsprechenden Werte für die Projektion auf eine zur Sagittalebene parallele Ebene berechnet werden. Die Vorderansicht konnte hinreichend genau aufgenommen werden.

Das Projektionsbild des Weges der Flügelspitze in Seitenansicht (Abb. 13) zeigt, daß der Flügel in einem Winkel von etwa 30° aus der

Abb. 15. Geschwindigkeit der Flügelspitze während einer Schlagperiode (120 Hz), bestimmt aus der Bahn der Flügelspitze einer fächelnden Biene in Seitenansicht (Abb. 13). Teilung der Abszisse in 1/3750 sec

Transversalebene nach hinten geschwenkt ist und in einer schwach gekrümmten Bahn auf- und abschlägt. Die Schlagamplitude beträgt etwa 90°, die Frequenz 121 Hz. Die Bahnkurve in Vorderansicht (Abb. 14) eines anderen Tieres zeigt eine merklich größere Amplitude um 120° bei der ausnahmsweise hohen Frequenz von 150 Hz. Die ebenso wie für den Flug ermittelte Geschwindigkeitskurve für die Flügelspitze (Abb. 15), und zwar bei 120 Hz Fächelfrequenz, ist der beim Fluge ähnlich, jedoch sind die auftretenden Geschwindigkeiten niedriger. In der zweiten Hälfte des Abschlages streuen die Meßwerte ziemlich stark, doch kann man in Anlehnung an die Geschwindigkeitskurven des Fluges (Abb. 9 und 10) ein erneutes Ansteigen der Geschwindigkeit annehmen.

Für die Bestimmung des Anstellwinkels wurde der von vorn aufgenommene Fächler herangezogen. Wegen der Erfordernisse einer einwandfreien Frontalaufnahme konnte in diesem Falle allein eine Biene, die nicht wie üblich in einer Fächelkette stand, gefilmt werden. Daher war der auf sie treffende Fächelstrom schwach und kaum abzuschätzen. Daraus folgt, daß für den Anblaswind in erster Linie der relative Schlagwind maßgebend war. Aus der Abb. 16 erkennt man für den Abschlag mit relativ niedriger Geschwindigkeit einen positiven Anstellwinkel, der dem Absolutbetrag nach größer als der negative Anstellwinkel beim merklich schnelleren Aufschlag ist.

Abb. 16. Anstellwinkel der Flügelfläche beim Fächeln im Abschlag (——) und Aufschlag (— — —)

Tabelle. *V = Schlaggeschwindigkeit im Bereich der größten Flügelbreite; α = Anstellwinkel zum Anblaswind (Absolutwert)*

Die Zahlenfolge entspricht der Reihenfolge beim Ab- und Aufschlag, die Umkehrbereiche sind nicht mit aufgeführt.

Abschlag		Aufschlag	
V (m/sec)	∢ α (°)	V (m/sec)	∢ α (°)
2,7	57	3,7	38
2,7	61	5,1	38
2,9	59	5,1	34
5,1	54	7,1	28
4,0	52	6,1	26
4,9	54	4,6	28
4,6	55		
4,0	59		
3,4	67		

Auch innerhalb der beiden Schlagphasen sind den größeren Geschwindigkeiten die kleineren Anstellwinkel gegenüber dem Anblaswind zugeordnet, wie aus der Tabelle zu ersehen ist. Nur in der Mitte des Abschlages sinkt die Geschwindigkeit kurz ab ohne entsprechende Änderung des Anstellwinkels. Diese Senkung ist auch in der Geschwindigkeitskurve in Abb. 15 ausgeprägt.

Beide Schlagphasen ergeben Vortrieb bzw. Luftförderung nach hinten; der Aufschlag bewirkt außerdem Abtrieb, der Abschlag Auftrieb, was sich in Auf- und Abbewegungen des Rumpfes äußert. Die Bienen machen dabei sozusagen rhythmische Kniebeugen. Durch Ankrallen an die Unterlage wirkt die Biene dem Auftrieb des Abschlages entgegen. Auf einem sehr leichten, anfangs mit einem Gewicht beschwerten Netzchen aus Haarborsten fächelnde Bienen kippen, den wirkenden Luftkräften entsprechend, nach Entlastung des Netzes nach vorne über. Die Wirkung des Auftriebes ist auch zu beobachten, wenn man das Flugbrett mit einer sauberen Glasplatte bedeckt. Auf dieser glatten Unterlage finden die Fächler nicht den richtigen Halt, um dem Auftrieb zu widerstehen, und man sieht, wie immer wieder einzelne Füßchen wegrutschen und neu aufgesetzt werden müssen.

Fühlerbewegungen während des Fächelns. Auch beim Fächeln sind rhythmische Fühlerbewegungen zu beobachten, die mit den Rumpfbewegungen gekoppelt sind, und zwar schwingen die Geißelspitzen gleichsinnig mit den Flügeln infolge einer ähnlichen Phasenverschiebung wie bei den Beinen im Fluge. Zwischen Perioden mit deutlicher Schwingung sind ebenso wie beim Fluge solche mit weitgehend unterdrückter Schwingung eingeschoben.

3. Flug- und Fächelton

Die Oszillogramme vom Fächel- und Flugton spiegeln die besprochenen Bewegungsvorgänge der Flügel wider. Das Flugton-Oszillogramm

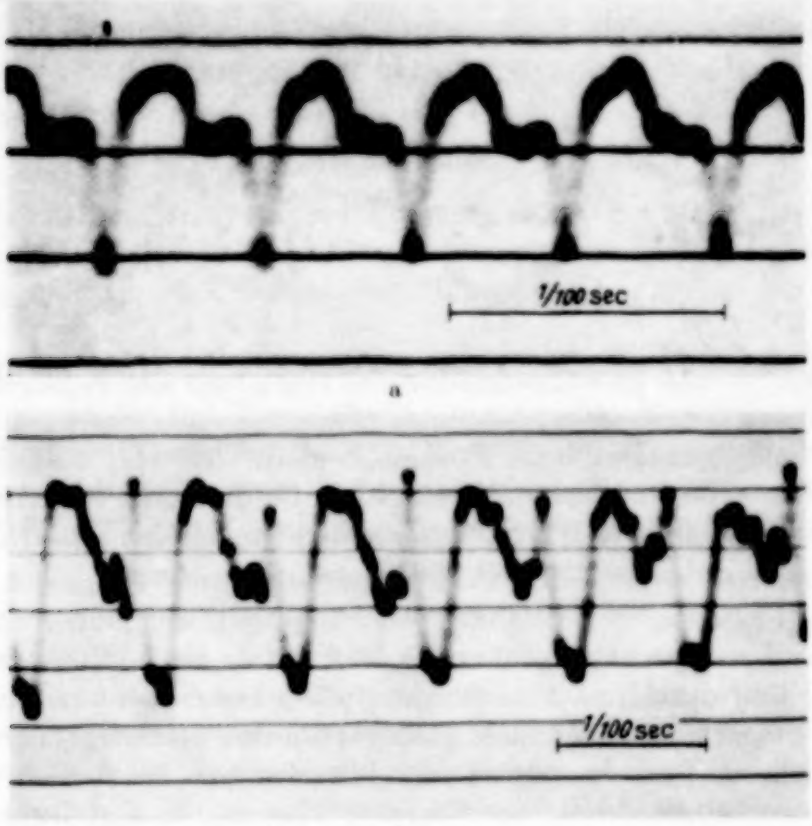


Abb. 17. Oszillogramm des Flugtones (a) und Fächeltones (b)

(Abb. 17a) zeigt eine relativ einfache Schwingung von 183 Hz. Die betreffende Biene wurde nicht angeblasen, um Störgeräusche durch die Turbine zu vermeiden. Es sind 2 Abschnitte zu unterscheiden, ein verhältnismäßig lang andauernder mit ziemlich geringer Amplitudenänderung (Schalldruck) und ein kürzerer mit starker Amplitudenänderung. Unter Berücksichtigung der oben behandelten Flugbewegung dürfte der erste auf den Abschlag, der zweite auf den Aufschlag zu beziehen sein. Ganz anders ist das Oszillogramm des Fächelns (Abb. 17b), das eine Frequenz von 118 Hz hat. Hier tritt eine zweite starke Amplituden-

änderung hervor, die, wie sich beim Vergleich mit dem Flugoszillogramm ergibt, vermutlich auf die Luftförderung beim Aufschlag zurückzuführen ist. Dieser zweite steile Kurvengipfel rechtfertigt die oben angestellte Überlegung (S. 622) über die Abweichung der von HANSSON (1945) angegebenen Fächelfrequenz von der hier mitgeteilten.

4. Vergleich von Fächeln und Fliegen

In der Grundform stimmen Fächeln und Fliegen überein, nämlich daß die Flügel auf und ab bewegt werden. Wenn man aber die einzelnen Eigentümlichkeiten von Fliegen und Fächeln betrachtet, kommt man zu der Auffassung, daß es sich um zwei verschiedene Bewegungsarten handelt.

Abb. 18. Lage der Flügelschlagebenen im Flug (a) und beim Fächeln (b)

Die Schlagfrequenz beim Fächeln liegt mit 120 Hz, ausnahmsweise bis 150 Hz, wesentlich tiefer als beim Flug, für den unter experimentellen Bedingungen 180—210 Hz, unter normalen Umständen (HANSSON 1945) überwiegend zwischen 230 und 260 Hz gefunden wurden.

Beim Fluge liegen die Bahnen der Flügelspitzen in einer Ebene, die gegen die Anströmrichtung um etwa 130° schräg nach hinten geneigt ist und ungefähr durch den Flügelansatz beider Seiten geht (Abb. 18a), so daß die Flügel von hinten oben nach vorn unten und umgekehrt bewegt werden. Beim Fächeln werden die Flügelspitzen in Bahnen geführt, die in zwei senkrechten, aus transversalen rechts und links um 30° nach hinten geschwenkten Ebenen liegen (Abb. 18b).

Die Schlagamplitude beim Fächeln liegt zwischen 90 und 120°. In gleicher Größenordnung bewegt sich auch die Amplitude beim Fliegen. Die eigenen Beobachtungen stimmen mit denen von HERAN (1959) überein.

Entsprechend der niedrigeren Frequenz bewegt sich der Flügel beim Fächeln langsamer als beim Flug. Im Abschlag werden im 1. Falle an der Flügelspitze Geschwindigkeiten von 6—7 m/sec, im 2. Falle etwa 15 m/sec erreicht. Für den Aufschlag erhält man entsprechend beim Fächeln 9—10 m/sec, beim Fluge 22 m/sec.

Der Anstellwinkel ist beim Fächeln im Abschlag positiv, im Aufschlag negativ, so daß in beiden Phasen Luft von vorn nach hinten gefördert wird. Beim Fluge leistet der Abschlag infolge eines positiven Anstellwinkels Auf- und Vortrieb. Der Aufschlag hat einen Anstellwinkel um 0° und trägt deshalb zum Fluge nicht bei.

Im Hinblick auf die großen Unterschiede in der Schlagfrequenz, in der Lage der Schlagebene und der Anstellwinkel beim Aufschlag kann man das Fächeln nicht als „Fliegen im Stand" ansprechen, es hat als eine Bewegungsform eigener Art zu gelten, wenn es sich auch ohne Zweifel in der Koordination der einzelnen Muskelaktionen von der Flugbewegung ableiten läßt. Die Unterschiede betreffen wohl in erster Linie die Aktionen der Flügelsteuerungsmuskeln, weniger die Tätigkeit der Hauptflugmuskeln, die nur das Tempo ihres Aktionsrhythmus verändern.

Zusammenfassung

Die Anordnung der vor dem Flugloch stehenden Fächler wird beschrieben und daraus die Arbeitshypothese abgeleitet, daß der aus dem Kasten kommende Fächelstrom das Fächeln der hier stehenden Bienen auslöst.

Der durch Wärmereiz hervorgerufene natürliche Fächelstrom wird auf seine physikalischen Eigenschaften untersucht. Es werden folgende Werte gefunden: Geschwindigkeit des flach über das Flugbrett streichenden Stromes bis zu 2 m/sec, Temperatur zwischen 31,0 und 40,4° C, am häufigsten 35—36° C, Schwingungsfrequenz um 120 Hz.

Eine Anlage zur Erzeugung eines dem Fächelstrom nachgebildeten Luftstromes wird beschrieben. Es ist möglich, die Bienen in diesem Luftstrom zum Fächeln zu bringen. Durch Veränderung der Strömungsgeschwindigkeit, der Schwingungsfrequenz und der Temperatur wird die Bedeutung dieser Faktoren untersucht. Wesentlich ist eine den natürlichen Verhältnissen angenäherte Strömungsgeschwindigkeit und eine Schwingung der Luft dieses Stromes, wobei sich eine Sinusform von 140—160 Hz und der natürliche Fächelton mit 120 Hz als am wirkungsvollsten erweisen. Der Volksduft begünstigt anscheinend die Fächelbereitschaft.

Die vor dem Flugloch stehenden Fächler sind zum überwiegenden Teil Flugbienen.

Mit Hilfe von Hochfrequenz-Filmaufnahmen wird die Flügelbewegung im fixierten Fluge und beim Fächeln ermittelt. Die Unterschiede in der Lage der Flügelschlagebene, der Flügelgeschwindigkeit und der Größe des Flügelanstellwinkels legen nahe, Fächeln und Flug als verschiedene Bewegungsformen der Bienen aufzufassen.

Es werden beim Fluge beobachtete Fühler- und Beinbewegungen sowie Fühlerbewegungen beim Fächeln beschrieben. Oszillogramme des Flug- und Fächeltones werden verglichen und an Hand der aus den Filmen gewonnenen Ansichten gedeutet.

Literatur

BOETTIGER, E. G., and E. FURSHPAN: The mechanics of flight movements in Diptera. Biol. Bull. Woods Hole **102**, 200—211 (1952).

BÜDEL, A.: Physikalische Austauschvorgänge im Flugloch (Situation während der Brutzeit). Z. Bienenforsch. **3**, 221—233 (1957).

— Das Flugloch. Südwestdtsch. Imker **1957**, 264—270.

DANZER, A.: Der Flugapparat der Dipteren als Resonanzsystem. Z. vergl. Physiol. **38**, 259—283 (1956).

FRISCH, K. v., u. M. LINDAUER: Über die Fluggeschwindigkeit der Bienen und über ihre Richtungsweisung bei Seitenwind. Naturwissenschaften 377—385 (1955).

HANSSON, Å.: Lauterzeugung und Lautauffassungsvermögen der Bienen. Opusc. entomologica Suppl. **6**, (1945).

HAZELHOFF, E. H.: Ventilation in a bee-hive during summer. Physiol. comp. ('s-Grav.) **3**, 343—364 (1954).

HERAN, H.: Untersuchungen über den Temperatursinn der Honigbiene (*Apis mellifica*) unter besonderer Berücksichtigung strahlender Wärme. Z. vergl. Physiol. **34**, 179—206 (1952).

— Ein Beitrag zu der Frage nach der Wahrnehmungsgrundlage der Entfernungsweisung der Bienen (*Apis mellifica* L.). Z. vergl. Physiol. **38**, 168—218 (1956).

— Die Bienenantenne als Meßorgan der Flugeigengeschwindigkeit. Naturwissenschaften **44**, 475 (1957).

— Wahrnehmung und Regelung der Flugeigengeschwindigkeit bei *Apis mellifica* L. Z. vergl. Physiol. **42**, 103—163 (1959).

HESS, W. R.: Die Temperaturregulation im Bienenvolk. Z. vergl. Physiol. **4**, 465—487 (1926).

HIMMER, A.: Ein Beitrag zur Kenntnis des Wärmehaushaltes im Nestbau sozialer Hautflügler. Z. vergl. Physiol. **5**, 375—389 (1927).

— Über die Wärme im Hornissennest. Z. vergl. Physiol. **13**, 748—761 (1931).

— Die Temperaturverhältnisse bei den sozialen Hymenopteren. Biol. Rev. **7**, 224—253 (1932).

— Die Nestwärme bei *Bombus agrorum*. Biol. Zbl. **53**, 270—276 (1933).

HOLST, E. v., u. D. KÜCHEMANN: Biologische und aerodynamische Probleme des Tierfluges. Naturwissenschaften **29**, 348—362 (1941).

LINDAUER, M.: Die Temperaturregulierung der Bienen bei Stocküberhitzung. Naturwissenschaften **38**, 308—309 (1951).

— Ein Beitrag zur Frage der Arbeitsteilung im Bienenstaat. Z. vergl. Physiol. **34**, 299—345 (1952).

— Temperaturregulierung und Wasserhaushalt im Bienenstaat. Z. vergl. Physiol. **36**, 391—432 (1954).

PRASSE, J.: Über den Start und Flug des *Sisyphus schaefferi* L. Beitr. z. Entomol. **10**, 168—183 (1960).

PRINGLE, J. W. S.: Insect flight, Cambridge monographs in experimental biology 9. Cambridge: Cambridge University Press 1957. (Hier umfangreiches Literaturverzeichnis.)

SCHMITT, C.: Beiträge zur Biologie der Feldwespe (*Polistes gallicus* L.). Z. wiss. Insekt.-Biol. **15**, 112—118, 146—161, 221—230 (1919).

Steiner, A.: Die Temperaturregulation im Nest der Feldwespe (*Polistes gallica* var. *biglumis* L.). Z. vergl. Physiol. **11**, 461—502 (1930a).
— Neuere Ergebnisse über den sozialen Wärmehaushalt der einheimischen Hautflügler. Naturwissenschaften **18**, 595—600 (1930b).
— Die Arbeitsteilung der Feldwespe *Polistes dubia* K. Z. vergl. Physiol. **17**, 101—152 (1932).
— Neue Untersuchungen über die Arbeitsteilung bei Insektenstaaten. Ergebn. Biol. **10**, 156—176 (1934).
Stellwaag, F.: Bau und Mechanik des Flugapparates der Biene. Z. wiss. Zool. **95**, 518—550 (1910).
Weyrauch, W.: Beitrag zur Biologie von *Polistes*. Biol. Zbl. **48**, 407—427 (1928).
— Das Verhalten sozialer Wespen bei Nestüberhitzung. Z. vergl. Physiol. **23**, 51—63 (1936).
Wohlgemuth, R.: Die Temperaturregulation des Bienenvolkes unter regeltheoretischen Gesichtspunkten. Z. vergl. Physiol. **40**, 119—161 (1957).

Prof. Dr. W. Neuhaus
Erlangen, Zoologisches Institut der Universität

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 642—679 (1960)

Aus dem Zoologisch-vergleichend-anatomischen Institut der Universität Zürich (Schweiz)

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNG VON FORTPFLANZUNGS-FAKTOREN AUF DIE LEBENSDAUER VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*-WEIBCHEN

Von

HANS KUMMER

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. Juli 1960)

Inhalt

Seite

I. Das Problem 642
II. Material und allgemeine Technik 644
III. Der Einfluß der Eiproduktion auf die Lebensdauer 645
1. Technik 646
2. Die Wirkung implantierter Ovaranlagen auf die Lebensdauer 646
3. Vergleich mit der Wirkung anderer Implantate 648
4. Senkung der Eiproduktion durch Temperatureinfluß 650
5. Senkung der Eiproduktion durch Implantation eines überzähligen Ovars 652
6. Diskussion 653
IV. Die Verkürzung der Lebensdauer durch die Männchen 654
1. Kopulationswirkung und Spermienschicksal in sterilen und fertilen Weibchen 654
2. Veränderung der weiblichen Aktivität durch die Männchen 656
3. Senkt die Balz die Lebenserwartung? 659
4. Die Wirkung genetisch steriler Männchen auf die Lebensdauer der Weibchen 659
5. Vaginale Injektionen von Paragonialsekret und Hoden-Extrakt . . . 663
6. Vorversuche mit operativer Beschränkung des Ejakulats 665
7. Mechanische Schadenwirkung der Kopula 668
8. Diskussion 669
V. Die Stimulation der Eiablage durch die Männchen 670
1. Die Wirkung der Balz 671
2. Die Wirkung der ejakulatsfreien Kopula 671
3. Die Rolle des Paragonialsekrets 672
4. Diskussion 673
VI. Allgemeine Befunde 674
Zusammenfassung 678
Literatur 678

I. Das Problem

Nach PEARL (1920) wird die Lebensdauer des Individuums durch einen mehr oder weniger raschen Verbrauch seines ererbten „Lebensvorrats" (endowment) bestimmt. Ein intensiver Verbrauch endet mit einem frühen Tod. Die Lebensdauer ist also mit der Lebensrate negativ

korreliert. Diese als Rate of Living-Theorie bekannte, ursprünglich von RUBNER (1908) formulierte Anschauung wurde von mehreren Autoren mit wechselnden Resultaten überprüft. Eindrücklich sind die exakten Untersuchungen von MCARTHUR u. BAILLIE (1929) an *Daphnia magna*. Die Männchen dieser Art leben weniger lang als die Weibchen. Ihre Herzen schlagen aber gerade soviel schneller, daß die Lebens-Gesamtzahl der Herzkontraktionen beider Geschlechter statistisch nicht zu unterscheiden ist. Diese konstante Schlagzahl wird bei 3 verschiedenen Temperaturen von beiden Geschlechtern eingehalten. Ebensowenig variiert die gesamte ausgeatmete CO_2-Menge pro Individuum. Letzteres gilt nach SZERBAKOW (1937) entgegen älteren Angaben auch für *Drosophila melanogaster*.

Bei Insektenarten verschiedener systematischer Ordnungen hat die Kopulation zweierlei Auswirkungen auf das Leben der Weibchen: Eine Steigerung der Eiproduktion und eine Verkürzung des imaginalen Lebens. Nach der verbreitetsten Deutung (z.B. SMITH 1958) wirkt die Kopulation nur als Stimulans auf die Eiablage. Der nachfolgende frühe Tod aber ist eine Folge der vom Männchen angeregten Hochleistung der Ovarien und damit des Stoffwechsels, was wiederum mit der Pearlschen Theorie übereinstimmen würde.

Für die beiden Wirkungen der Kopulation können folgende Feststellungen angeführt werden: RAU u. RAU (1912) fanden bei verschiedenen Saturniiden-Arten *(Lepidoptera)* eine verkürzte Lebensdauer bei besamten Weibchen. Dank höherer Tagesleistungen erreichten sie dennoch die Gesamt-Eizahl virgineller Kontrollen. *Periplaneta americana (Blattaria)* legt nach GRIFFITH u. TAUBER (1942) um so mehr Eikapseln ab und stirbt um so früher, je länger man die Weibchen von der Geschlechtsreife an mit Männchen zusammen hält. BILEWICZ (1953) verkürzte das Leben von *Drosophila melanogaster*-Weibchen durch das dauernde Zusammenleben mit Männchen um die Hälfte. Die Eiproduktion dieser Weibchen stieg bei Beginn des Versuchs rasch an, ging aber bald so sehr zurück, daß die Gesamtzahl abgelegter Eier mit derjenigen virgineller Weibchen zusammenfiel. Noch extremere Verhältnisse fand MÜLLER (1957) beim Frühen Kastanienwickler *Pammene juliana (Lepidoptera)*. Virginelle Weibchen legen durchschnittlich 80 Eier und leben bis zu 30 Tagen. Hat aber eine Kopulation stattgefunden, so steigt die totale Eizahl auf durchschnittlich 180 Eier, während die Lebensdauer auf 10—12 Tage absinkt.

Nach diesen Arbeiten scheinen die Männchen den weiblichen Lebensablauf durchwegs zu beschleunigen. Besamte Weibchen legen ihre Eier früher ab. Sie erzeugen pro Tag — in einigen Fällen auch gesamthaft — mehr Eier und sterben früher als unbesamte Weibchen ihrer Art. Offen bleibt aber die Frage, ob das frühe Absterben wirklich eine Folge

vermehrter Eiproduktion sei. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, durch Transplantation fertiler Ovaranlagen in genetisch sterile Weibchen des Genotyps *fes/fes (female sterile)* einen allfälligen Einfluß der Eiproduktion auf die Lebensdauer festzustellen und damit die Pearlsche Theorie erneut zu prüfen. Da das Ergebnis der Rate of Living-Theorie widersprach, wurde in einer zweiten Versuchsgruppe nach einem direkten lebensverkürzenden Einfluß der Männchen gesucht. Drittens stellte sich die Frage, welcher Faktor der männlichen Einwirkung für die Anregung der Eiablage verantwortlich sei.

Meinem Lehrer, Herrn Professor Dr. E. HADORN, möchte ich für die Überlassung des Themas und für seine Hilfe bei der Ausarbeitung herzlich danken. Den Herren Prof. Dr. H. BURLA und Prof. Dr. B. L. VAN DER WAERDEN danke ich für statistische Ratschläge, Herrn Dr. G. ANDERS für Zucht und Überlassung eines Mutanten-Stamms. Meinen Kollegen Dr. H. URSPRUNG und H. LÜÖND bin ich für wertvolle Diskussionen und zeitweilige Hilfe bei den Versuchen besonders verpflichtet.

II. Material und allgemeine Technik

Wir experimentierten hauptsächlich mit 2 Stämmen. Die benötigten Wildfliegen lieferte der Stamm „iso-8", der vitalste von mehreren isogenen Stämmen, die nach dem bei REIFF (1945) dargestellten Verfahren aus dem Wildstamm „Sevelen" hergestellt wurden. Wir arbeiteten sodann mit genetisch sterilen Weibchen der Konstitution *fes cn bw/fes cn bw* (kurz *fes*-Weibchen) aus dem balancierten Stamm *fes cn bw/Cy*.

Zucht und Versuche wurden bei 25 ± 0,5°C, 65—75% relativer Feuchtigkeit und mit einer Ausnahme im Dunkeln durchgeführt. Zum Vergleich bestimmte Versuchs-Serien wurden stets gleichzeitig gehalten und stammten von Eltern aus derselben Zuchtflasche ab. Je 200 Eier mit einem Altersunterschied von höchstens 8 Std wurden in Flaschen mit Mais-Agar-Hefe-Futter gesetzt. Aus diesen Flaschen wurden die in den ersten 24 Std schlüpfenden Fliegen für die Experimente verwendet. Die Versuchsfliegen erhielten während der ganzen Imaginalzeit ein aus 10 Teilen Zucker, 1 Teil Agar und 20 Teilen Wasser bereitetes Futter mit aufgetropfter Frischhefe. Zusatz von Kohlepulver erleichterte das Zählen der abgelegten Eier.

Für die meisten Versuche wurden 1—4 Fliegen in Glastuben von 25 mm Durchmesser und 75 mm Höhe gehalten. Damit die Versuchstiere nicht festklebten, wurde der Boden mit Filtrierpapier belegt und das Futter oben auf einem senkrecht stehenden Celluloidstreifen angeboten. Als Verschluß dienten Korkstopfen mit einer 6 mm weiten, unten mit Gaze überzogenen Bohrung. Die Futterstreifen wurden alle 2 Tage erneuert. Wo die Kenntnis der individuellen Eizahlen nicht interessierte, bewährte sich eine Massenhaltung in Flaschen mit senkrecht gestellten

Futterlöffeln aus Papier, wobei Gazestücke als Verschluß dienten. Eine Flasche enthielt bis zu 40 Fliegen. Das Verfahren ergab etwas höhere Lebensdauerwerte und eine geringere Streuung, was nach PEARL (1922) mit der besseren Durchlüftung zusammenhängen könnte. Wo verschieden behandelte Fliegen im selben Gefäß lebten, wurden sie durch Abschneiden eines Flügels markiert. Auf die Lebensdauer hat dieser Eingriff keinen Einfluß (S. 658). Zudem wurden die Markierungen in jedem Gefäß auf Versuchs- bzw. Kontrollfliegen anders verteilt.

Unter „Lebensdauer" verstehen wir in Übereinstimmung mit früheren Autoren die Dauer des Imaginallebens vom Verlassen des Puparіums an. Die Todesfälle wurden täglich einmal registriert. Durch Unfall ums Leben gekommene Fliegen (Ankleben am Futter) wurden für die Statistik der Ergebnisse nicht berücksichtigt. Bei der statistischen Behandlung der Lebensdauerwerte ist die Voraussetzung der Normalverteilung nicht zulässig (Prof. VAN DER WAERDEN, mündliche Mitteilung). Um zu prüfen, ob 2 Versuchsserien sich in ihrer Lebensdauer gesichert unterschieden, wandten wir den zweiseitigen t-Test an. Mortalitätskurven geben wir nur dann wieder, wenn eine der verglichenen Versuchsserien mehr als 30 Tiere umfaßt. Unter der Bezeichnung M führen wir das arithmetische Mittel der Werte einer Versuchsserie an, unter m den mittleren Fehler desselben. N bedeutet die Anzahl der Werte der Serie.

III. Der Einfluß der Eiproduktion auf die Lebensdauer

Anhand der Eiproduktion sollte die Rate of Living-Theorie besonders leicht zu prüfen sein, da in ihr eine erhebliche, gut meßbare Leistung des Baustoffwechsels zur Verfügung steht, die ohne massiven Eingriff in die vitalen Stoffwechselvorgänge experimentell variiert werden kann.

Einige Autoren benutzten dazu eine anscheinend einfache Methode, indem sie die Korrelation zwischen Eizahl und Lebensdauer innerhalb eines Stammes bestimmten. HANSON u. FERRIS (1929) fanden bei *Drosophila melanogaster*-Weibchen mit sehr geringer Legetätigkeit keine entsprechend höhere Lebensdauer. Dagegen stellte ALPATOV (1932) bei *Drosophila melanogaster* eine negative Korrelation fest zwischen Lebensdauer und mittlerer täglicher Eiproduktion während der fertilen Periode. GOETSCH (1955) andererseits bezeichnet Zahl und Entwicklungsfähigkeit der Eier als Maß für die „Vitalität" der Mütter. Für unsere Frage bleiben diese Korrelationsbestimmungen wertlos, solange nicht erwiesen ist, daß zwischen den *Genotypen* für Langlebigkeit und Fecundität *keine* Korrelationen bestehen. Eine positive Korrelation der beiden phänotypischen Größen kann z. B. sowohl bei fördernder, wie auch bei fehlender oder schädigender Wirkung der Eiproduktion auf die phänotypische Langlebigkeit zustande kommen, je nach Art der Korrelation der entsprechenden Erbanlagen (Abb. 1). HADORN und ZELLER (1943) erhielten

durch Selektion Stämme mit hoher und geringer Eiproduktion. Die Weibchen des produktiveren Stammes lebten nicht weniger lang, sondern sogar länger als diejenigen der schlecht legenden Linie. Gerade dieses Ergebnis legt eine Korrelation der Genotypen nahe, indem langlebige Tiere als allgemein kräftigere Genotypen auch mehr Eier legen könnten. Damit ist aber nicht ausgeschlossen, daß die hohe Eiproduktion die Lebensdauer auf phänotypischem Niveau beeinträchtigt (Abb. 1c).

Weitere Untersuchungen müssen demnach in erster Linie an genotypisch gleichen Gruppen durchgeführt werden. Mit der Transplantation fertiler Ovaranlagen in sterile Weibchen ist diese Forderung erfüllt. Wir gewinnen damit Versuchsserien verschiedener Fecundität, aber gleichen Genotyps.

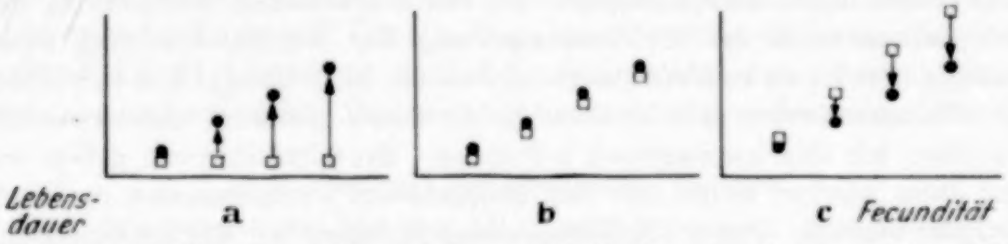


Abb. 1a—c. Positive Korrelation zwischen manifestierter Lebensdauer und Fecundität ist möglich bei a lebensverlängernder (↑), b fehlender und c lebensverkürzender Wirkung der Eiproduktion (↓), je nach der Korrelation der Genotypen. □ = Genotypen-, ● = Phänotypen-Varianten der 2 Größen

1. Technik

Nach der von EPHRUSSI und BEADLE (1936) entwickelten Technik transplantierten wir Ovaranlagen 90stündiger iso-8-Larven oder Kontrollorgane und -substanzen in gleichaltrige weibliche Larven der Konstitution *fes cn bw/fes cn bw*. Die Überlebensrate post op. schwankte zwischen 50 und 100%. Gleichzeitig mit den operierten Tieren isolierten wir die nicht operierten Kontroll-Larven und setzten beide Serien auf frisches Futter. Die Imagines wurden spätestens 8 Std nach dem Schlüpfen einzeln in Tuben mit Agarfutterstreifen gesetzt. In einigen Versuchen wurde ein junges iso-8-Männchen zugesetzt. Starb ein solches Männchen vor dem Weibchen, so wurde es durch ein gleichalteriges Männchen ersetzt. Starben die Weibchen, so wurden sie seziert und die Anwesenheit des Implantats kontrolliert.

2. Die Wirkung implantierter Ovaranlagen auf die Lebensdauer

Das implantierte Wildtyp-Ovar verhilft *fes*-Weibchen, die mit iso-8-Männchen zusammenleben, zu einer ganz verschieden hohen Fecundität. Vorerst sondern sich aus den operierten Versuchsserien die Weibchen aus, deren Implantat keinen Anschluß an den Eileiter fand, und die daher keine Eier ablegen. Nur in einem Versuch traten ferner einige

Weibchen mit offenbar geschädigten Implantaten auf. Die Eiproduktion erfolgte hier stoßweise und war stark herabgesetzt. Eine totale Eizahl von 150 wurde in diesen Fällen nie erreicht. Diese Gruppe wurde aus dem Versuch ausgeschieden. In der dritten Serie figurieren die Weibchen mit angeheftetem Ovar und guter Eiproduktion (total >150 Eier). Als Kontrollen wurden 2 Serien geführt: Die eine wurde nicht operiert, der andern injizierten wir dieselbe Menge Holtfreter-Lösung, die auch bei der Transplantation der Ovaranlage in den Wirt gelangt. Im übrigen verlief der Eingriff genau gleich wie bei der Transplantation. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 dargestellt.

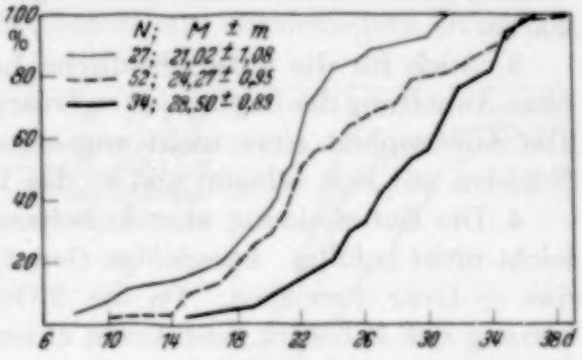


Abb. 2. Zeitliche Verteilung der akkumulierten Mortalität (Ordinate, in %) von *fes*-Weibchen —— ohne Implantat, — — — mit nicht angeheftetem und ——— mit angeheftetem Ovar, bei Anwesenheit von Männchen. Abszisse: Alter in Tagen (d). N Individuenzahl der Serie, $M \pm m$ mittlere Lebensdauer und mittlerer Fehler (Tage)

Deutlich länger als alle andern Serien leben die Weibchen, denen das angeheftete Ovar zu einer normalen Fecundität (>150 Eier) verhilft. Während des ganzen Lebens legten sie im Mittel $351{,}0 \pm 16{,}8$ Eier ab. Die individuelle Eizahl steht in keiner gesicherten Korrelation zur individuellen Lebensdauer ($r = 0{,}27 \pm 0{,}012$). An zweiter Stelle folgen die Fliegen mit nicht angeheftetem Ovar, die auch keine Eier legen. Der Unterschied in der Lebensdauer dieser 2 Serien ist nach dem t-Test gut gesichert ($t_{85} = 3{,}21$; $P < 0{,}01$). Wir schließen daraus vorläufig auf eine lebensverlängernde Wirkung der Eiproduktion.

Die nicht operierten Kontrollen lebten $21{,}10 \pm 1{,}52$ Tage ($N = 15$), die Kontrollen mit Holtfreter-Injektion $20{,}91 \pm 1{,}94$ Tage ($N = 12$). Dies deutet darauf hin, daß die Operation an sich die Lebensdauer nicht verändert. In Abb. 2 sind die beiden Serien daher zu einer einzigen Kontrollserie zusammengefaßt. Es überrascht, daß die mittlere Lebensdauer der Serie mit nicht angehefteten Ovarien immer noch über derjenigen der Kontrollen liegt ($t_{88} = 2{,}26$; $P < 0{,}03$). Offenbar hat auch das implantierte Ovar an sich eine die Lebensdauer erhöhende Wirkung. Aus den Kurven geht hervor, daß das nicht angeheftete Ovar seine den Tod aufschiebende Wirkung später entfaltet als das mit dem Eileiter in Verbindung stehende Ovar.

Gegen diese ersten Schlüsse erhebt sich eine ganze Reihe von Einwänden:

1. Die operierten Serien stellen nicht mehr dieselben Genotypensortimente dar wie die Kontrollen. Ein Teil der Tiere starb infolge des

Eingriffs. Falls dabei hauptsächlich schwache, kurzlebige Genotypen ausgemerzt würden, ließe sich das scheinbar längere Leben der operierten Serien leicht erklären. Die Injektion von Holtfreter-Lösung hatte allerdings keinen derartigen Auslese-Effekt, obwohl in dieser Serie eine ebenso hohe postoperative Mortalität auftrat.

2. Dem Wirtsorganismus fehlen die *cn*$^+$- und *bw*$^+$-Stoffe, möglicherweise auch Substanzen, die von der *fes*-Mutante nicht gebildet werden. Stoffe könnten mit dem +-Ovar übertragen werden und die Lebensdauer positiv beeinflussen. Allerdings behält das Wirtsauge seine weiße Farbe.

3. Auch für die unterschiedliche Lebensdauer der Fliegen mit und ohne Anheftung des implantierten Ovars sind andere Deutungen möglich: Die Anwesenheit eines nicht angehefteten Ovars könnte irgendwelche Schäden mit sich bringen und so das Leben verkürzen.

4. Die Entscheidung über Anheftung oder Nichtanheftung fällt vielleicht nicht zufällig. Langlebige Genotypen könnten bei der Anheftung das +-Ovar vorziehen. Da die 3 Ovaranlagen im Moment der Anheftung sich äußerlich noch kaum unterscheiden, besitzt dieser Einwand wenig Wahrscheinlichkeit.

5. Alle Weibchen des Versuchs lebten mit Männchen zusammen. Wenn die Männchen — wie sich zeigen wird — die weibliche Lebensdauer direkt verkürzen, so könnten sie durch verschiedenes Verhalten gegenüber den verschieden behandelten Weibchen die beobachteten Unterschiede erzeugt haben, z. B. durch häufigere Kopulation mit den nicht operierten oder nicht zur Anheftung des fertilen Ovars gelangten Weibchen. Da nach unserer Erfahrung unoperierte *fes*-Weibchen die Kopulation wesentlich länger verweigern als die fertilen Wildtyp-Weibchen, halten wir auch diese Möglichkeit für unwahrscheinlich.

3. Vergleich mit der Wirkung anderer Implantate

Um die eben erhobenen Einwände zu prüfen, setzten wir nun folgenden Versuch an: In einer ersten Serie wurden den *fes*-Weibchen als Larven je 2 Augen- und Antennen-Imaginalscheiben implantiert, die sich darauf im Abdomen zu imaginalen Augen und Antennen entwickelten. Einer zweiten Serie implantierten wir wiederum die Anlage eines fertilen Ovars, einer dritten ein Stück Fettkörper von derselben Größe. Eine vierte Serie wurde nicht operiert. Alle Implantate des Versuchs stammten von weiblichen Spendern des Genotyps *cn bw/cn bw*. Je 4 geschlüpfte Imagines wurden in einen Tubus gesetzt. Soweit wie möglich enthielt jeder Tubus von jeder Versuchsserie eine durch Flügelschnitt markierte Fliege. Männchen wurden keine zugegeben.

Die Ergebnisse enthält Abb. 3. Die Serien gliedern sich nach ihren Mittelwerten in 2 Gruppen, eine mit unbeeinflußter und eine mit ver-

längerter Lebensdauer. Zur ersten gehören die nicht operierten Kontrollen und die Weibchen, denen wir Fett implantierten. Unter die zweite Gruppe fallen die Tiere, die als Implantat eine zusätzliche Organanlage erhielten, die sich in ihrem Abdomen entwickelte: Die Weibchen mit Augen- und Antennenscheiben und mit Ovaranlagen. Die Serien einer Gruppe sind in ihrer Lebensdauer statistisch nicht zu unterscheiden. Dagegen leben die mit Augenanlagen versehenen Weibchen gesichert länger als die unoperierten Kontrollen ($t_{98} = 2{,}44$; $P \sim 0{,}02$), ebenso die Weibchen mit implantierten Ovaranlagen ($t_{110} = 3{,}33$; $P \sim 0{,}001$). In dieser letzten Serie gab es 16 Weibchen mit angeheftetem Ovar. Sie legten im Mittel 108,8 ± 18,9 Eier ab und lebten 30,41 ± 1,30 Tage, während die Weibchen mit nicht angeheftetem Implantat durchschnittlich 32,87 ± 2,09 Tage alt wurden. Der Unterschied in der Lebensdauer ist nicht signifikant, weshalb wir die Tiere mit Ovaranlagen zu einer einzigen Serie zusammenfaßten.

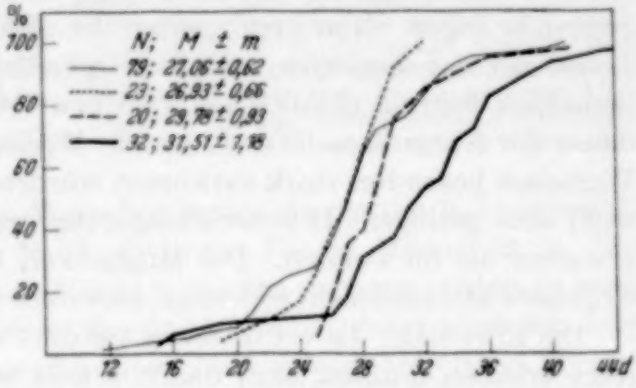


Abb. 3. Zeitliche Verteilung der akkumulierten Mortalität (Ordinate, in %) von *fes*Weibchen ——— ohne Implantat, ····· mit implantiertem Fettkörperstück, — — — Augen- und Antennenscheiben und ——— Ovar. Alle Weibchen blieben virginell. Abszisse: Alter in Tagen (d). *N* Individuenzahl der Serie. $M \pm m$ mittlere Lebensdauer und mittlerer Fehler (Tage)

Wir prüfen nun die auf S. 647f. erhobenen Einwände anhand der neuen Ergebnisse:

1. Die postoperative Mortalität war nach der Implantation der Fettstücke und der Augenscheiben ungefähr dieselbe, nämlich 44,7% bzw. 42%. Sie hat offensichtlich keinen Einfluß auf die Lebensdauer. Würden vorwiegend kurzlebige Genotypen ausgeschieden, so müßten die mit Fett beschickten Weibchen länger leben als die nicht operierten Kontrollen.

2. Da alle Implantate von homozygoten *cn bw*-Spendern stammen, läßt sich das längere Leben der mit zusätzlichen Augen- und Ovaranlagen versehenen Fliegen nicht mit der Wirkung von eingeführten +-Stoffen dieser Mutanten erklären. Daß auch Augen- und Antennenanlagen lebensverlängernd wirken, macht eine spezifische stoffliche Hilfe des *fes*$^+$-Ovars eher unwahrscheinlich.

3. Das nicht mit dem Eileiter verbundene Ovar hat zum mindesten bei virginellen Weibchen keine lebensverkürzende Wirkung. Es wäre also höchstens denkbar, daß die vom Männchen ausgehende Stimulation der Eiablage dann schädlich wird, wenn ein funktionstüchtiges Ovar vorhanden ist, aber dem Legereiz nicht folgen kann.

4. Die Weibchen mit nicht angeheftetem Ovar starben in unserem Versuch nicht früher als die Weibchen mit angeheftetem Ovar. Damit fällt auch die Möglichkeit außer Betracht, daß die Anheftung bei den genotypisch langlebigen Fliegen besonders leicht gelingt.

5. Ein implantiertes fertiles Ovar verlängert auch dann das Leben der Trägerin, wenn keine Männchen anwesend sind. Der Unterschied zwischen den Kontrollen und den Weibchen mit nicht angeheftetem Ovar kam also im ersten Versuch (Abb. 2) nicht deswegen zustande, weil die Kontrollen häufiger kopulierten. Dem Unterschied zwischen Fliegen mit angeheftetem und nicht angeheftetem Ovar könnte dagegen im erster Versuch wirklich die erhöhte Kopulationsbereitschaft der letzteren zugrunde liegen. Nun verlängerten die nicht angehefteten Ovarien das Leben der kopulierenden und der virginellen Wirtsfliegen um ungefähr denselben Betrag, nämlich um 15,5 bzw. 16,4% der mittleren Lebensdauer der Kontrollen. Wenn aber die Männchen die Lebensdauer dieser Weibchen besonders stark verkürzen würden, so wäre im ersten Versuch wohl eine geringere Lebensverlängerung gegenüber den Kontrollen zu erwarten als im zweiten. Die Möglichkeit eines selektiven Männcheneinflusses ist damit nicht widerlegt, aber doch unwahrscheinlich geworden.

Die Einwände, die wir in bezug auf die Deutung der ersten Versuchsreihe erheben mußten, sind damit soweit widerlegt, daß unsere ersten Schlüsse (S. 647) doch die größte Wahrscheinlichkeit besitzen: In sterile Weibchen implantierte Ovarien verlängern auch ohne Anheftung an den Eileiter die Lebensdauer der Wirtsfliegen. Eine weitere Lebensverlängerung tritt dann ein, wenn die Verbindung mit dem Ovidukt zustande kommt und die Eier abgelegt werden.

Die Implantation verschiedener Organe (Abb. 3) führte außerdem zu folgenden Ergebnissen: Implantierte Fettstücke verlängern das Leben nicht, wohl aber Augen- und Antennenanlagen. Lebensverlängernde Wirkung scheinen nur solche Implantate zu haben, die im Wirtsorganismus wachsen und sich differenzieren. Für die Deutung interessant ist der Vergleich zwischen den Kurven der Serien mit Augen- und Antennenanlagen einerseits und Ovaranlagen andererseits (Abb. 3). Die Kurve der Augen-Antennen-Serie hebt sich anfänglich stark von der Kontrollkurve ab, fällt aber vom 30. Tag an mit ihr zusammen. Das Implantat verhütet also in erster Linie den Frühtod, später erlischt seine Wirkung. Demgegenüber hält die Wirkung des Ovar-Implantats bis ins hohe Alter an. Erst dann läßt sie ebenfalls nach.

4. Senkung der Eiproduktion durch Temperatureinfluß

SMITH (1958) führte an *Drosophila subobscura* Versuche durch, die unsern Ergebnissen zu widersprechen scheinen. Fertile Weibchen, die vom 4.—9. Imaginaltag bei 30,5°C, sonst aber bei 25°C gehalten werden,

legen weniger Eier und leben länger als dauernd bei 25°C gehaltene Weibchen desselben Stammes. Außerdem verweigern sie die Kopulation auf Tage hinaus. Manche von ihnen sind daher 10 und mehr Tage nach der Behandlung noch virginell. SMITH schließt nun aus der Korrelation zwischen herabgesetzter Eizahl und erhöhter Lebensdauer auf eine lebensverkürzende Wirkung der Eiproduktion. Er stützt diesen Schluß, indem er nachweist, daß dieselbe vorübergehende Temperatursteigerung bei ovarlosen Weibchen aus einem *grandchildless*-Stamm keine Verlängerung des Lebens herbeiführt, da diese Weibchen bei jeder Temperatur steril sind.

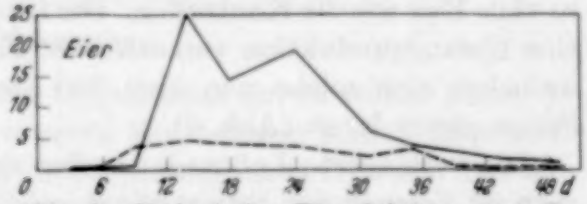


Abb. 4. Verlauf der Eiproduktion virgineller Wildstamm-Weibchen. Eine Serie (———) wurde dauernd bei 25°C, die andere (— — —) vom 4.—9. Tag bei 31°C gehalten. Bei Versuchsbeginn umfaßte die erste Serie 33, die zweite 30 Tiere. Ordinate: Mittlere Eiproduktion in 40stündigen Zählperioden. Abszisse: Alter in Tagen (d)

Im Versuch mit fertilen Weibchen setzte SMITH am 9. Imaginaltag den Kontrollen wie den bei 30,5° gehaltenen Fliegen Männchen zu. Den sterilen Weibchen im zweiten Versuch wurden dagegen zeitlebens keine Männchen beigegeben. SMITHs Resultate können daher auch wie folgt gedeutet werden: Die unterschiedliche Lebensdauer im ersten Versuch

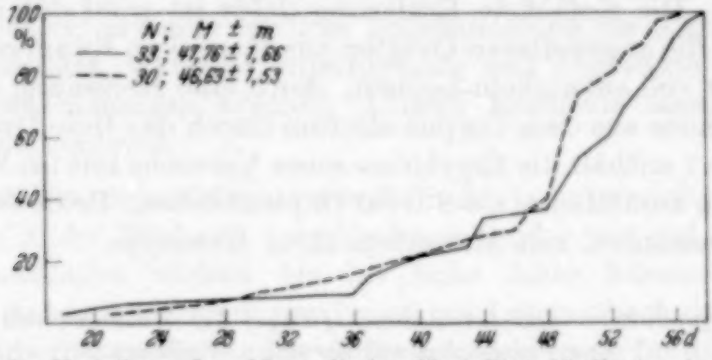


Abb. 5. Zeitliche Verteilung der akkumulierten Mortalität (Ordinate, in %) virgineller Weibchen mit ——— normaler und — — — durch Temperatureinfluß herabgesetzter Eiproduktion. Abszisse: Alter in Tagen (d)

rührt daher, daß die wärmebehandelten Weibchen viel länger virginell blieben und daher dem lebensverkürzenden Einfluß der Kopulation, den wir noch nachweisen werden, erst spät und in geringer Dosis ausgesetzt sind. Bei den ovarlosen Weibchen fehlte jeder männliche Einfluß und daher auch eine verschiedene Dosierung desselben. Die behandelten Fliegen lebten daher gleich lange wie die Kontrollen.

Wir setzten nun fertile, zeitlebens virginelle Weibchen aus dem iso-8-Stamm demselben Temperatureinfluß aus und verglichen ihre Eiproduktion und Lebensdauer mit den entsprechenden Daten einer

dauernd bei 25°C gehaltenen Kontrollserie. Die behandelte Serie wurde vom 4.—9. Imaginaltag bei 31°C gehalten, in der übrigen Zeit bei 25°C. Jede Serie lebte in einer eigenen Flasche.

Die Auswirkung der Wärmebehandlung auf die Eiproduktion ist in Abb. 4 wiedergegeben. Behandelte Weibchen legten nur ungefähr halb so viele Eier wie die Kontrollen. Die fruchtbarsten unter ihnen erreichten eine Gesamtproduktion von etwa 160 Eiern, die fruchtbarsten Kontrollweibchen eine solche von über 300 Eiern. Dennoch lebten die beiden Serien gleich lange (Abb. 5).

Die verlängerte Lebensdauer der wärmebehandelten fertilen Weibchen im Versuch von SMITH hängt auf Grund dieser Resultate kaum mit ihrer herabgesetzten Eiproduktion zusammen. Die Weibchen leben deshalb länger, weil sie sich nach dem Aufenthalt im 30,5°-Thermostaten lange Zeit dem lebensverkürzenden Einfluß der Männchen — der Kopulation — entziehen.

5. Senkung der Eiproduktion durch Implantation eines überzähligen Ovars

Bei Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß ein zusätzlich implantiertes fertiles Ovar die Eiproduktion einer ohnehin fertilen Trägerin wesentlich herabsetzt. Die Kontrollweibchen legten mit 2 angehefteten Ovarien mehr Eier als die operierten Weibchen mit 2 angehefteten und einem freien Ovar. Die einfachste Erklärung dafür ist wohl die, daß sich im zweiten Fall die angehefteten Ovarien aus Mangel an Raum oder Aufbaustoffen nicht voll entwickeln können. Auch eine Hemmung des gonadotropen Hormons aus dem Corpus allatum durch das freie Ovar ist denkbar. Tabelle 1 enthält die Ergebnisse eines Versuchs mit iso-8-Weibchen, denen wir ein zusätzliches iso-8-Ovar implantierten. Beide Serien lebten paarweise zusammen mit Männchen ihres Genotyps.

Tabelle 1. *Eiproduktion und Lebensdauer (Tage) bei Weibchen mit überzähligem Ovar, verglichen mit normalen Weibchen*

	Weibchen mit überzähligem Ovar		Nicht operierte Kontrollen	
	N	*M* ± *m*	*N*	*M* ± *m*
Totale Eiablage pro Weibchen .	36	321,2 ± 50,5	18	549,6 ± 92,2
Zahl der reifen Eier pro angeheftetes Ovar beim Tod . .	32	14,5 ± 2,4	14	15,5 ± 1,9
Zahl der reifen Eier pro freies Ovar beim Tod	22	32,4 ± 3,3		
Mittlere Lebensdauer	36	30,14 ± 2,56	18	27,52 ± 3,54

Die Sektion der Ovarien konnte nicht bei allen Weibchen durchgeführt werden. Dennoch wird klar, daß der beim Tod noch nicht abgesetzte Eiervorrat den Unterschied in der Zahl der abgelegten Eier

nicht kompensiert. Die Kontrollen haben tatsächlich mehr Eier gelegt ($t_{53} = 2{,}26$; $P < 0{,}05$). In der Lebensdauer aber unterschieden sie sich nicht eindeutig von der operierten Serie: Infolge der außergewöhnlich hohen Streuung ist die Differenz von 2,6 Tagen nicht signifikant ($t_{53} = 0{,}61$).

6. Diskussion

Die Lehre Pearls, nach der ein Organismus um so früher stirbt, je mehr er leistet, bestätigt sich in unseren Ergebnissen nicht. Eine Steigerung der Eiproduktion hat nicht zwangsläufig einen früheren Tod zur Folge. In einem ersten Versuch (S. 647) erhöhten wir die Zahl der von einem Weibchen total abgelegten Eier von 0 auf ungefähr 350. Das Ergebnis war eine deutliche Lebensverlängerung. Im zweiten Experiment (S. 652) verglichen wir Weibchen mit einer mittleren Eiproduktion von etwa 160 Eiern mit genetisch gleichen Fliegen, die um 300 Eier legten. Die beiden Serien lebten gleich lange. Im dritten Versuch (S. 652) beobachteten wir 2 Serien, von denen die eine im Durchschnitt 320, die andere 550 Eier pro Weibchen ergab. In ihrer Lebensdauer unterschieden sie sich nicht eindeutig, doch lebten nun die Weibchen mit größerer Eizahl im Mittel etwas weniger lange.

In manchen Fällen wird man der Rate of Living-Theorie die Auffassung vorziehen, daß eine mittlere Lebensleistung die längste Lebensdauer gewährleistet, während unternormale und übersetzte Leistungen das Altern beschleunigen können. Unsere Resultate lassen sich mit dieser Ansicht vereinen.

Im zweiten Transplantationsversuch (S. 648) zeigten sich interessante Unterschiede in der Wirkung verschiedener Implantate auf die Lebensdauer. Ovaranlagen wirken bis ins hohe Alter lebensverlängernd, Augen- und Antennenanlagen nur im ersten Lebensabschnitt, Teile des Fettkörpers überhaupt nicht. Die einfachste Erklärung für diesen Unterschied ist wahrscheinlich die folgende: Das Implantat wirkt so lange positiv auf die Lebensdauer, also wohl verjüngend, als in seinem Innern Zellteilungen stattfinden. Geht die Mitosetätigkeit zurück, so hält die Wirkung noch einige Zeit an. Bei sehr alten Fliegen wirkt sich sogar ein implantiertes Ovar nicht mehr lebensverlängernd aus, da es seine Mitosetätigkeit lange vor dem Tod, beim Aussetzen der Eiproduktion, weitgehend eingestellt hat. Diese Deutung würde erklären, warum Fettstücke keine Wirkung haben und weshalb angeheftete, in ihrer Tätigkeit nicht gehinderte Ovarien besser und schon früher wirken, als nicht angeheftete, deren Zellvermehrung durch den mangelnden Abtransport der Eier beschränkt ist. Zellvermehrung und lebensverlängernde Wirkung des Implantats sind deutlich korreliert.

Mit der Rate of Living-Theorie lassen sich auch diese Ergebnisse nicht erklären. Die zusätzliche Anforderung an den Baustoffwechsel wirkte nicht lebensverkürzend, sondern im Gegenteil lebensverlängernd, während zusätzliche Reservestoffe wirkungslos blieben.

IV. Die Verkürzung der Lebensdauer durch die Männchen

Die bisher besprochenen Ergebnisse lassen darauf schließen, daß eine gesteigerte Eiablage allein das Leben noch nicht verkürzt. Von den Männchen muß daher ein Einfluß ausgehen, der die Lebensdauer der Weibchen unabhängig von der Steigerung der Eiproduktion direkt herabsetzt. Eine Bestätigung dieser Folgerung geht bereits aus dem ersten Kapitel hervor: Die als Kontrollen verwendeten *fes*-Weibchen lebten im ersten Versuch — zusammen mit Männchen (Abb. 2) — wesentlich weniger lang als die dauernd virginellen Kontrollen im zweiten Versuch (Abb. 3), obwohl beide Serien keine Eier legten. Als Objekt für die Analyse des direkten Männchen-Einflusses wählen wir *fes*-Weibchen. Damit fällt die störende Intervention der Eiablage weg. Die sterilen Weibchen registrieren nur die direkten Einflüsse des Männchens auf die Lebensdauer. Wir werden bei dieser Methode allerdings im Auge behalten müssen, daß sterile Weibchen vielleicht nicht gleich auf diese Einflüsse reagieren wie fertile Weibchen.

Wir bestimmten zuerst grob das Wirkungsausmaß bekannter Einfluß-Dosen. Die Analyse selbst wurde sodann auf 3 Wegen versucht: Mit Hilfe verschiedener genetisch steriler Männchen-Typen, durch künstliche Injektion eines Ejakulatsanteils und zuletzt durch operativen Unterbruch des männlichen Genitaltrakts vor der Kopulation.

1. Kopulationswirkung und Spermienschicksal in sterilen und fertilen Weibchen

Die Analyse des männlichen Einflusses auf die Langlebigkeit steriler *fes*-Weibchen ist nur dann sinnvoll, wenn sich die gewonnenen Resultate mit guten Gründen auf die Reaktion fertiler Weibchen übertragen lassen. Wir wollen daher untersuchen, ob gleiche Dosen des männlichen Einflusses bei sterilen und fertilen Weibchen gleich stark wirken, und ob die beiden Weibchentypen nach der Besamung mit dem Spermienvorrat gleich verfahren.

Die Dosierung des Einflusses wurde durch Beobachtung der Anzahl erfolgter Kopulationen erreicht. Die Männchen wurden bis zum Alter von 4—6 Tagen ohne Weibchen gehalten. Dann setzten wir ohne Narkose jedem Versuchsweibchen 2 Männchen zu. Nach der Kopulation wurden die Männchen wieder entfernt. Ihr Aufenthalt im Tubus des Weibchens schwankte dabei zwischen 20 min und etwa 2 Std. Fand in

dieser Zeit keine Kopulation statt, so wurden die Männchen am folgenden Tag ein zweites Mal zugesetzt. Auf diese Weise entstanden Versuchsserien mit einer bekannten Anzahl von Kopulationen. Die dadurch bewirkte Lebensverkürzung wurde in Prozent der mittleren Lebensdauer virgineller Weibchen ausgedrückt (Tabelle 2). Die Angaben über homozygote *yellow*-Fliegen (*y*/*y*) stammen aus einem auf S. 660 beschriebenen Versuch.

Tabelle 2. *Lebensverkürzung durch eine bekannte Anzahl von Kopulationen bei sterilen und fertilen Weibchen*

Genotyp der		Lebensdauer (Tage)				Anzahl Kopulationen	Verkürzung
		virginelle Kontrollen		kopulierende Weibchen			
♀♀	♂♂	*N*	*M* ± *m*	*N*	*M* ± *m*		%
fes/*fes*	iso-8	23	25,69 ± 1,10	23	21,71 ± 1,81	3	15,6
y/*y*	*y*/*y*	17	40,81 ± 3,17	17	34,03 ± 1,29	3	14,7
iso-8	iso-8	32	46,81 ± 2,20	34	44,85 ± 1,80	1	4,2

Die Ergebnisse deuten auf eine konstante, von den geprüften Genotypen unabhängige Wirkung der Kopulation: Bei fertilen wie bei sterilen Weibchen verkürzte eine Kopulation die mittlere Lebensdauer um ungefähr 5%. Dieser Prozentsatz ist anscheinend bei langlebigen und bei kurzlebigen Stämmen derselbe. Die Wirkungen mehrerer Kopulationen scheinen sich zu summieren.

Das Schicksal der Spermien in fertilen und sterilen Weibchen verglichen wir in folgender Weise: 30 *fes*- und ebensovielen iso-8-Weibchen wurde eine einzige beobachtete Kopulation mit iso-8-Männchen gestattet. Danach wurden zu bestimmten Zeiten stets 2 Weibchen jeder Serie seziert und ihr Genitaltrakt mikroskopisch auf Spermien untersucht. Tabelle 3 zeigt, daß die Spermien eines Ejakulats bei sterilen und bei fertilen Weibchen nach demselben Zeitplan im Genitaltrakt auftauchen und wieder verschwinden. Aus der Vagina wandern die Spermien in beiden Fällen sofort ins ventrale Receptaculum ein. Erst nach einer Stunde findet man sie auch in den Spermatheken. Dies entspricht den Befunden von Noniдez (1920).

Die ventralen Receptacula beginnen sich schon in den ersten Tagen wieder zu leeren, und zwar bei fertilen Weibchen eventuell etwas schneller, offenbar deshalb, weil hier ein Teil der Spermien für die Befruchtung der Eier verwendet wird. Der Spermatheken-Vorrat verringert sich während einer langen Zeit nur unwesentlich. Immerhin sieht man ab und zu einige Spermien in den Ausführgängen der Spermatheken. Zwischen dem 14. und 19. Tag nach der Besamung schwinden auch die Spermatheken-Vorräte. Was mit den verschwindenden Spermien eigentlich

Tabelle 3. *Spermienvorkommen im Genitaltrakt fertiler (f) und steriler (s) Weibchen*

3 = dichte Massen, 2 = spärliches, lockeres Vorkommen, 1 = vereinzelte, 0 = keine Spermien. Jede Zahl repräsentiert den Mittelwert der Organe aus 2 Weibchen.

Zeitspanne nach der Kopulation	Vagina		Ventrales Receptaculum		Spermatheken-Kapseln	
	f	*s*	*f*	*s*	*f*	*s*
30—40 min	3	3	3	3	0	0
1 Std	3	3	3	3	3	1
1 Tag	0	0	3	3	3	3
2 Tage	0	0	2	3	3	3
3 Tage	0	0	1	1,5	3	3
5 Tage	0	0	2,5	1,5	3	3
7 Tage	0	0	2	2	2,5	3
9 Tage	0	0	1	2,5	3	3
11 Tage	0	0	1	2,5	3	3
14 Tage	0	0	1	2,5	3	3
19 Tage	0	0	0,5	0	1,5	0

geschieht, konnten wir nicht feststellen. Vermutlich werden sie ausgestoßen. Anzeichen einer Resorption waren nicht zu bemerken.

Eine bestimmte Dosis des männlichen Einflusses verkürzt also die Lebensdauer steriler und fertiler Weibchen prozentual gleich stark. Damit ist erneut gezeigt, daß nicht die Eiproduktion an dieser Lebensverkürzung schuld ist. Ferner werden die Spermien von sterilen Weibchen in derselben Weise und ungefähr gleich lange gespeichert wie von fertilen Weibchen. Auf Grund dieser Übereinstimmungen dürfen wir annehmen, daß die genetisch sterilen *fes*-Weibchen auf den lebensverkürzenden Einfluß der Männchen in derselben Art reagieren wie fertile Weibchen des Wildtyps. Es läßt sich daher verantworten, wenn wir zur Lokalisation des lebensverkürzenden Faktors *fes*-Weibchen verwenden, bei denen der störende Einfluß der Eiproduktion wegfällt.

2. Veränderung der weiblichen Aktivität durch die Männchen

Wir prüften vorerst folgende Hypothese: Es ist denkbar, daß die Balz das Weibchen zu vermehrter Aktivität antreibt. Diese könnte bei Überschreitung eines gewissen Maßes die Lebensdauer herabsetzen. Es wurde deshalb untersucht, ob eine solche Steigerung wirklich stattfindet. Gleichzeitig sollte festgestellt werden, ob der lebensverkürzende Einfluß nur von artgleichen Männchen ausgeht.

Sterile *fes*-Weibchen wurden mit verschiedenen Partnern bei Tageslicht und 25°C in Tuben gehalten und ihre Aktivität beobachtet. In der ersten Serie wurde jedem Weibchen eine gleiche, ebenfalls virginelle *fes*-Partnerin zugesetzt, die durch Abschneiden eines Flügels markiert war. In der zweiten Serie war der Partner ein iso-8-Männchen, in der dritten ein *Drosophila subobscura*-Männchen. Bei Versuchsbeginn waren

alle Weibchen unbesamt. Jede Serie umfaßte 18 Testweibchen. Am 12. Tag wurden die bisherigen Männchen entfernt und durch junge Männchen ersetzt.

Beobachtet wurde am 4., 7., 11., 15. und 19. Tag des Imaginallebens je dreimal täglich: zwischen 7 und 9 Uhr, zwischen 11 und 13 Uhr und zwischen 17 und 19 Uhr. Die Tuben wurden pro Sitzung 9mal durchbeobachtet. Jeder Durchgang lieferte eine Stichprobe pro Weibchen. Die Reihenfolge der Tuben blieb innerhalb einer Sitzung konstant. Der zeitliche Abstand der Stichproben betrug von Tubus zu Tubus 5 sec. Bei jedem 5. Schlag eines auf 60 eingestellten Metronoms wurde ein Weibchen geprüft und seine Aktivität im Moment des Schlages während der nächsten 5 sec protokolliert. Unterschieden wurden:

1. Ruhe (*R*).

2. Putzen (*P*), Fressen (*F*), Treten an Ort (*T*). Unter letzteres fallen vor allem Kletterversuche im Alter, wobei die Haftballen anscheinend versagen.

3. Laufen (*L*).

4. Auseinandersetzungen mit dem Partner (Soz.; vgl. SPIETH 1947, 1949 und MILANI 1951). In den Tuben mit iso-8-Männchen umfaßten diese:

Balzstellung oder „Pointing" (*BS*). Dabei steht das Männchen etwa eine Körperlänge vom Weibchen entfernt auf dessen Kopf hin orientiert und bewegungslos.

Balz (*B*): Das Männchen betastet das Weibchen mit den Vorderbeinen (Tapping), berührt es mit dem Rüssel (Protruding), öffnet und schließt die Flügel (Scissoring) oder umkreist das Weibchen, indem es ihm stets zugewandt bleibt (Circling). Bei all diesen Verhaltensweisen bleibt das Weibchen am Ort.

Balzlauf (*BL*), bei dem das Weibchen vom Männchen verfolgt wird.

Kopulation (*K*).

Kontakte zwischen dem Testweibchen und dem zweiten Tubusbewohner kamen auch dort vor, wo wir als Partner *fes*-Weibchen bzw. *subobscura*-Männchen eingesetzt hatten. Sie beschränkten sich meist auf gegenseitiges Betrommeln mit den Vorderbeinen und wurden als *Kt* protokolliert.

Auf diese Weise wurden für jedes Einzelleben 135 Stichproben gesammelt, für jede Serie 2430. Die Anzahl der auf die 4 Aktivitätsklassen fallenden Stichproben wurde pro Beobachtung und Serie zusammengefaßt (Tabelle 4).

Berechnet man für jedes Weibchen einerseits den Anteil der motorischen und anderseits der sozialen Aktivität an der Gesamtzahl seiner Stichproben (*N*), so erhält man damit einen motorischen und einen Sozial-Index. Balzläufe sind für beide Indizes zu berücksichtigen. Bei der Berechnung des motorischen Index *MI* wurde die Anzahl der Stichproben für Putzen, Nahrungsaufnahme und An-Ort-Bewegungen nur mit dem halben Wert eingesetzt, ebenso für den Sozial-Index *SI* die Zahl der bewegungslos in Balzstellung verbrachten Stichproben. Wir verwenden die oben gebrauchten Abkürzungen der Verhaltenstypen jetzt für ihre beobachtete Häufigkeit und definieren:

$$MI = \frac{{}^1/_2 (P + F + T) + L + BL}{N}; \quad SI = \frac{{}^1/_2 BS + B + BL + K + Kt}{N}.$$

Tabelle 4. *Aktivitätszahlen von fes-Weibchen mit verschiedenen Partnern*
R = Ruhe, *P* = Putzen, *F* = Fressen, *T* = Treten am Ort, *L* = Laufen, *Soz.* = Sämtliche Auseinandersetzungen mit dem Partner.

Alter	Aktivität der Weibchen mit											
	fes-Weibchen				*subobscura*-Männchen				iso-8-Männchen			
Tage	*R*	*P,F,T*	*L*	*Soz.*	*R*	*P,F,T*	*L*	*Soz.*	*R*	*P,F,T*	*L*	*Soz.*
4.	308	68	100	10	309	59	114	4	313	39	31	103
7.	236	65	158	27	228	63	190	5	302	67	65	52
11.	152	76	232	26	124	97	263	2	295	102	86	3
15.	124	81	255	26	132	104	245	5	208	129	101	48
19.	133	145	202	6	108	124	253	1	206	140	96	44
Total	953	435	947	95	901	447	1065	17	1324	477	379	250

In Tabelle 5 sind Indizes und Lebensdauer der 3 Versuchsserien wiedergegeben.

Die entflügelten Partnerinnen der ersten Serie lebten gleich lange (29,53 Tage) wie die in denselben Tuben gehaltenen Testweibchen (29,07 Tage). Für die Berechnung der mittleren Lebensdauer dieser Serie wurden daher die Partnerinnen mit verwendet. Das Markieren der Fliegen durch Abschneiden der Flügel hat offensichtlich keinen Einfluß auf die Lebensdauer.

Tabelle 5. *Aktivitäts-Indizes und Lebensdauer von fes-Weibchen im Zusammenleben mit verschiedenen Partnern* (Erklärungen im Text)

	fes-Weibchen mit								
	fes-Weibchen			*subobscura*-Männchen			iso-8-Männchen		
	N	*M*	± *m*	*N*	*M*	± *m*	*N*	*M*	± *m*
MI	18	0,48	± 0,016	18	0,52	± 0,018	18	0,25	± 0,032
SI	18	0,038	± 0,005	18	0,005	± 0,002	18	0,118	± 0,012
Lebensdauer (Tage)	34	29,07	± 1,05	19	28,65	± 1,00	17	25,30	± 1,08

Die eingangs gestellten Fragen lassen sich jetzt wie folgt beantworten:

1. Das Aktivitätsmuster der virginellen Weibchen mit männlichen *subobscura*-Partnern unterscheidet sich nicht von demjenigen der Weibchen mit Partnerinnen ihres eigenen Genotyps. Ebensowenig unterscheiden sich die beiden Serien in ihrer Lebensdauer.

2. Die mit arteigenen Männchen lebenden und daher besamten Weibchen ruhen häufiger und laufen viel seltener als die Weibchen der andern Serien. Ihre mittlere Lebensdauer ist gesichert geringer als diejenige der Serie mit *fes*-Partnerinnen ($t_{50} = 2{,}66$; $P \sim 0{,}01$) und mit *subobscura*-Partnern ($t_{35} = 2{,}3$; $P < 0{,}05$).

3. In allen Serien steigt die Aktivität vom 4. bis zum 19. Tag an. Die Häufigkeit des Putzens, Fressens und anderer An-Ort-Bewegungen ist bei allen 3 Serien gleich hoch.

Unsere Hypothese wurde durch die Versuche widerlegt: Die „Schuld" der Männchen am frühen Tod der Weibchen liegt nicht darin, daß Balz und Verfolgung eine übermäßige Steigerung der weiblichen Aktivität zur Folge hätten. Die besamten Weibchen sind vielmehr besonders träge. Nachdem bei allen Serien das zunehmende Alter auch eine zunehmende Aktivität mit sich bringt, läßt sich diese Trägheit nicht als vorzeitige Alterserscheinung verstehen. Dagegen könnte man die hohe Aktivität unbesamter Weibchen funktionell interpretieren. Ihre intensive Bewegung dürfte die Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens mit Männchen erhöhen. Nach der Kopulation aber würde dieser selektive Vorteil seine Wirkung weitgehend verlieren.

Für den allgemeinen Anstieg der Aktivität mit zunehmendem Alter gibt es auf Grund der Ergebnisse keine Erklärung.

Subobscura-Männchen veränderten weder die Aktivität noch die Lebensdauer der *fes*-Weibchen. Der lebensverkürzende Einfluß ließ sich also nur für die arteigenen Männchen nachweisen.

3. Senkt die Balz die Lebenserwartung?

Die Möglichkeit, daß die Balz das Altern der Weibchen beschleunigt, ist nach den bisherigen Ergebnissen bereits unwahrscheinlich. Bei den Versuchen mit beobachteter Kopulation (S. 654) beschränkte sich die totale Dauer der Balz während des ganzen Lebens auf wenige Stunden. Dennoch wurde eine deutliche Lebensverkürzung erzielt. In einem Versuch mit Männchen, deren Genitalöffnung mit Lack verschlossen wurde, die aber gleichwohl kräftig balzten, stellten wir keine Lebensverkürzung fest. Leider fiel ein großer Teil der alleinlebenden Kontrollen infolge eines Unfalls aus, doch lebten die virginellen, aber unter dem Einfluß der Balz stehenden Weibchen nicht weniger lang, als dies von alleinlebenden virginellen Weibchen zu erwarten gewesen wäre: Gegenüber der Serie mit Balz ($N = 46$) wies die Serie mit beobachteten Kopulationen ($N = 43$) eine Lebensverkürzung von 4,7% pro Kopulation auf.

Ein lebensverkürzender Einfluß der Balz ist gegenüber den Einflußmöglichkeiten der Kopulation so unwahrscheinlich, daß wir die Hypothese vorläufig fallen lassen. Die weiteren Versuche konzentrieren sich deshalb auf die Analyse der Kopulationswirkungen.

4. Die Wirkung genetisch steriler Männchen auf die Lebensdauer der Weibchen

Wir stellten uns zuerst die Frage, ob kopulierende Weibchen auch dann früher sterben, wenn das Ejakulat keine Spermien enthält. In

einem ersten Versuch benutzten wir genetische Weibchen mit der Erbkonstitution $\overline{y\,v\,f}$; *tra/tra*. Das mutierte Allel des *transformer*-Locus (*tra*) bewirkt, daß homozygote Weibchen sich phänotypisch zu Männchen entwickeln. Der Geschlechtsapparat ist normal, nur die Hoden bleiben vollkommen rudimentär. Spermien werden daher nie gebildet. Wir stellten vorerst fest, daß Weibchen nach der Kopulation mit *transformer*-Männchen eine normale, vollkommen spermienfreie Ejakulatsmenge enthalten. Dieses Ejakulat muß zum größten Teil aus Paragonialsekret bestehen.

Die Erfahrung zeigt, daß Wildstamm-Weibchen kaum *y*-Männchen annehmen. Da unsere *transformer*-Männchen homozygot für *y* sind, mußten wir für diesen Versuch anstelle von *fes*-Weibchen ausnahmsweise fertile *y/y*-Weibchen verwenden. Es wurde 3 Serien geführt. In der ersten blieben die Weibchen zeitlebens virginell, in der zweiten fanden 3 beobachtete Kopulationen mit fertilen *y*-Männchen statt, in der dritten ebensoviele Kopulationen mit *transformer*-Männchen. Die Kopulationen wurden wie folgt angesetzt: Die erste am 2. oder 3. Imaginaltag, die zweite am 11. oder 12., die dritte am 19. oder 20. Tag. Während der übrigen Zeit lebten die Weibchen zu dreien in Tuben, je ein Weibchen pro Serie in jedem Tubus. Markiert wurden die Weibchen durch Beschneiden der Flügel. Die *transformer*-Männchen kopulierten deutlich weniger lange als die fertilen *y*-Männchen.

Die Auswirkung der verschiedenen Männcheneinflüsse war eindeutig (Tabelle 6): Die *transformer*-Männchen verkürzten das Leben der Weibchen nicht im geringsten, während die Kopulation der fertilen Männchen die Lebensdauer um 14,7% (Tabelle 2) herabsetzte. Mit *transformer*-Männchen kopulierende Weibchen leben gesichert länger als normal besamte Weibchen ($t_{36} = 3{,}37$; $P \ll$ als 0,01).

Tabelle 6. *Einfluß der Kopulation von transformer-Männchen und fertilen Männchen auf die Lebensdauer fertiler Weibchen*

Lebensdauer (Tage) der Weibchen					
ohne Kopulationen		bei 3 Kopulationen mit *tra*-Männchen		bei 3 Kopulationen mit *y*-Männchen	
N	$M \pm m$	*N*	$M \pm m$	*N*	$M \pm m$
17	$40{,}81 \pm 3{,}17$	20	$41{,}81 \pm 1{,}29$	17	$34{,}03 \pm 1{,}92$

Zur Kontrolle dieser Ergebnisse wurden in einem weiteren Versuch genetisch sterile xo-Männchen geprüft. Wir erhielten sie durch die Kreuzung von iso-8-Männchen mit Weibchen eines markierten *attached-x*-Stammes:
(„*X.Y In 26*“) $Y^s.X\ InEN\ In\ 26\ B\ f\ v.\ Y^L sc^8 y^+ \delta$ & $y^2 su\text{-}w^a\ w^a\ bb.$ = (*no free Y*).

Die Hoden dieser xo-Männchen sind normal ausgebildet, fertige Spermien geben sie jedoch nicht ab. Die distalen 3 Viertel enthalten zwar Stränge reifender Spermien. Im untersten Viertel und im Vas efferens findet sich dagegen nur ein körniges Degenerat. Die Männchen balzten auffallend intensiv und ausdauernd. In der Vagina der von ihnen begatteten Weibchen fanden wir niemals Spermien vor, wohl aber in normaler Menge das feinkörnige Ejakulat aus den Paragonien.

Auf Grund der Ergebnisse mit *transformer*-Männchen wurde eine Kürzung der Lebensdauer nicht erwartet. Um das Ergebnis ganz sicherzustellen, setzten wir daher während des ganzen Lebens xo-Männchen zu. Ihr Einfluß wurde an iso-8- und an *fes*-Weibchen untersucht. Die Fliegen lebten paarweise in Tuben. Es zeigte sich, daß xo-Männchen das Leben beider Weibchentypen sogar besonders massiv abkürzen (Tabelle 7). Wir wiederholten daher den Versuch mit nur 3 Kopulationen, diesmal in Flaschen. Der Einfachheit halber kontrollierten wir nicht jede Kopulation, sondern setzten den Flaschen für 2 Std 2 xo-Männchen pro Weibchen zu, und zwar bei den iso-8-Weibchen am 8., 18. und 25. Lebenstag, bei den *fes*-Weibchen am 5., 12. und 16. Tag. Dieses Verfahren führte wohl dazu, daß die nach unsern Beobachtungen bereitwilliger kopulierenden iso-8-Weibchen im Mittel mehr Kopulationen erfuhren als die renitenten *fes*-Weibchen. Die erwartete Lebensverkürzung von etwa 15% wurde daher im Fall der fertilen Weibchen überschritten.

Tabelle 7. *Lebensdauer steriler und fertiler Weibchen bei verschieden starkem Einfluß von xo-Männchen*

Weibchen	Anzahl Kopulationen	Lebensdauer (Tage)				Verkürzung
		virginell		kopulierend		
		N	$M \pm m$	N	$M \pm m$	%
steril	3	27	$30{,}30 \pm 0{,}67$	25	$26{,}24 \pm 1{,}48$	13,4
	viele	17	$27{,}54 \pm 1{,}33$	18	$20{,}09 \pm 1{,}58$	27,05
fertil	3	25	$61{,}52 \pm 1{,}54$	16	$49{,}36 \pm 2{,}99$	19,8
	viele	13	$49{,}23 \pm 1{,}30$	12	$35{,}90 \pm 3{,}19$	27,07

Von xo-Männchen geht also ein lebensverkürzender Einfluß aus, der offensichtlich den *transformer*-Männchen fehlt. Dieses Ergebnis lenkt die Aufmerksamkeit auf den Unterschied zwischen den kleinen und funktionsuntüchtigen Hoden der *transformer*-Männchen und den vollentwickelten Testes der xo-Männchen, die zwar keine Spermien abgeben, aber immerhin solche ausbilden. Es liegt nahe, den lebensverkürzenden Faktor in einem flüssigen Sekret der Hoden oder in den Abbauprodukten der Spermien zu suchen. Eine solche Deutung setzt jedoch voraus, daß der Kopulationsvorgang und das Paragonialsekret der *transformer*-

Männchen gleich wirken wie die entsprechenden Einflüsse fertiler Männchen. Den Einwand, der Kopulationsvorgang sei bei *transformer*-Männchen nicht vollwertig, werden wir auf S. 669 weitgehend entkräften. Offen bleibt aber die Möglichkeit, daß der gesuchte Faktor im Paragonialsekret lokalisiert ist, und daß er den *transformer*-Männchen fehlt. Man kann sich beispielsweise vorstellen, daß ein Paragonialwirkstoff existiert, der nur vom männlich bestimmenden Genotyp mit einem x-Chromosom und 2 Autosomensätzen hergestellt wird. xy- und xo-Männchen müßten diesen Stoff aufbauen. *Transformer*-Männchen besitzen dagegen chromosal weibliche Konstitution. Das *transformer*-Allel führt zwar zur Ausbildung männlicher Organe, es unterläßt aber vielleicht die Umstimmung biochemischer Eigenschaften, von denen einige nach FOX und YOOX (1958) und FOX et al. (1959) durch das Zahlenverhältnis der x-Chromosomen zu den Autosomensätzen bestimmt werden. Es liegt nahe, dabei an besonders gennahe Stoffe zu denken, die möglicherweise im ganzen Körper vorkommen.

Die zuletzt genannte Hypothese läßt sich prüfen, indem man die Hämolymphe verschiedener Männchentypen Weibchen injiziert und ihre Lebensdauer mißt. Wir verglichen die Wirkung der Hämolymphe von iso-8-, xo- und *transformer*-Männchen und von iso-8-Weibchen auf die Lebensdauer von iso-8-Weibchen in einem Vorversuch. Spender und Empfänger wurden 5—8 Tage nach dem Schlüpfen narkotisiert und auf einem Wachsbett festgebunden. Zwischen den Coxae des 2. und 3. Beinpaars wurde eine zugespitzte Pyrexkapillare von 75 μ lichter Weite eingeführt und die klare Hämolymphe bis zu einer Farbmarke eingezogen. Injiziert wurde paramedian durch die Gelenkhaut zwischen den Tergiten. Das eingespritzte Quantum betrug 0,05 mm³. Die Empfänger wurden durch Flügelschnitte markiert und je 4 verschieden behandelte Fliegen in einen Tubus gesetzt. Die Weibchen blieben zeitlebens virginell. Starben sie vor dem 10. Lebenstag, so wurden sie ausgeschieden.

Tabelle 8. *Wirkung verschiedener Hämolymphe-Injektionen auf die Lebensdauer von iso-8-Weibchen*

Lebensdauer (Tage) nach Injektion von Hämolymphe aus							
iso-8-Weibchen		*tra*-Männchen		xo-Männchen		iso-8-Männchen	
N	$M \pm m$	*N*	$M \pm m$	*N*	$M \pm m$	*N*	$M \pm m$
16	$38{,}19 \pm 3{,}15$	17	$40{,}00 \pm 3{,}01$	14	$36{,}78 \pm 3{,}88$	13	$44{,}58 \pm 4{,}02$

Die Ergebnisse (Tabelle 8) zeigen keine gesicherten Unterschiede in der Wirkung der injizierten Hämolymphen auf die Lebensdauer. Da zudem die Streuung sehr umfangreiche Serien erfordert hätte, verzichteten wir auf ausgedehntere Versuche und gingen daran, die Wirkung des normalen Paragonsekrets aus fertilen Männchen direkt zu untersuchen.

5. Vaginale Injektion von Paragonialsekret und Hodenextrakt

Gottschewski (1937) führte mit der bei Transplantationen üblichen Apparatur die künstliche Besamung an *Drosophila* aus, indem er das Ejakulat aus einem eben besamten Weibchen einem virginellen Weibchen vaginal injizierte. Mit derselben Apparatur versuchten wir die Injektion einzelner Ejakulatsanteile, die wir direkt den entsprechenden Drüsen des Männchens entnahmen. Die Übertragung von Spermien scheiterte an ihrer Neigung, in der Kapillare festzukleben. Dagegen gelang die Injektion von Paragonialsekret auf folgende Weise:

Virginelle *fes*-Weibchen wurden mit Äther narkotisiert und seitlich in eine der Körperform angepaßte Vertiefung eines Bienenwachsbettes gelegt. Eine Textilfaser wurde quer über die Körpermitte gelegt und auf beiden Seiten in die Unterlage gedrückt, womit die Fliege genügend fixiert war. Das mit Glasrändern versehene Wachsbett füllten wir mit 0,8% NaCl-Lösung, deren p_H mit NaOH auf 6,7 eingestellt worden war. Auf einem Objektträger wurde ein iso-8-Männchen in derselben Lösung seziert und der Genitaltrakt auf ein Glasplättchen auf dem Grunde des Wachsbettes übertragen. Hier wurde ein Paragonium mit Seziernadeln eröffnet und das ausfließende Sekret in die Kapillare des Transplantationsapparates eingesogen. Die Kapillare besaß eine lichte Weite von 60 μ und eine Spitze mit rundgeschmolzenen Kanten. 300 μ von der Spitze entfernt war eine Farbmarke angebracht, die ein zu tiefes Einführen vermeiden ließ. Eine Mengenmarke erlaubte es, die Injektionsmenge von 0,006 mm³ einzuhalten. Die Kapillare wurde vor der Operation mit G-E-Silicone-Dri-Film SC 87 (General Electric) behandelt. Auf seitlichen Druck mit einer stumpfen Nadel stülpte das Weibchen den Ovipositor aus und ermöglichte so die Injektion. Die gefüllte Nadel verließ dabei die physiologische Lösung nie. Alle Gegenstände, die mit der Lösung in Berührung kamen, wurden mit Alkohol steril gehalten, außer dem Weibchen selbst. Nach der Injektion wurde die Lösung abgesogen, das Weibchen getrocknet und durch Flügelschnitt markiert. Den Kontrollen injizierten wir eine gleiche Menge reiner Lösung in genau gleicher Weise. Je ein mit Paragonialsekret behandeltes Weibchen und ein Kontrolltier lebten in einem Tubus. Jedes Weibchen erhielt in seinem Leben 2 Injektionen. Die injizierte Menge entspricht ungefähr dem halben Inhalt eines Paragoniums von 4tägigen, bis zur Sektion ohne Weibchen gehaltenen Männchen.

Vorversuche hatten gezeigt, daß das Paragonialsekret in Holtfreter-Lösung koaguliert und damit die Injektion verunmöglicht. Dies kommt bei Verwendung von 0,8% NaCl-Lösung nicht vor. In einem zweiten Versuch benutzten wir eine Lösung von folgender Zusammensetzung: 50 cm³ Holtfreter-Lösung, mit Zusatz von 75 mg NaCl und 1,68 g

Glucose. In dieser Lösung bleiben Spermien aus dem Vas efferens über 40 min beweglich, während sie in Holtfreter-Lösung rasch absterben. Wie Tabelle 9 zeigt, ergaben die beiden Lösungen gleiche Lebensdauer-Werte, weshalb wir die beiden Versuche statistisch zusammenfassen konnten.

Die Ergebnisse der Injektion (Tabelle 9) geben keinen Hinweis auf eine lebensverkürzende Wirkung von vaginal injiziertem Paragonialsekret.

Da sich das Einspritzen von Spermien aus den Vasa efferentia als technisch zu schwierig erwies, beschränkten wir uns auf die Injektion eines Hoden-Extrakts, dessen Konzentration wir allerdings nicht genau bestimmen konnten. In einem Tropfen Holtfreter-Lösung wurden für je 10 Weibchen 40 Hoden samt Vasa efferentia von 5 Tage alten iso-8-Männchen mit Nadeln geöffnet, zerkleinert und während einer Stunde bei 25°C unter Luftabschluß aufbewahrt. Danach zentrifugierten wir die Suspension bei etwa 20000 Touren/min und ließen das Überstehende bis auf eine minimale, aber noch flüssige Restmenge eindunsten. Von diesem Rest wurde jedem *fes*-Weibchen eine Menge von 0,015 mm³ vaginal injiziert. Wir gingen dabei ebenso vor wie bei der Injektion des Paragonialsekrets, nur daß hier nicht in der Lösung injiziert wurde. Jedes Weibchen erhielt schätzungsweise den Extrakt von einem Hoden. Eine Injektion wurde den Weibchen vom 5.—7. und eine zweite vom 14. bis 17. Lebenstage verabreicht. Den Kontrollen injizierten wir gleiche Mengen einer Holtfreter-Lösung, die denselben Verdunstungsprozeß durchgemacht hatte wie der Extrakt. Die Sektion der Weibchen nach dem Tod deckte bei beiden Serien dunkel verfärbte Verletzungen der Vagina in der Gegend der Spermatheken auf.

Tabelle 9. *Wirkung von vaginal injiziertem Paragonialsekret in NaCl-Lösung (Versuch I) und Holtfreter-NaCl-Glucoselösung (Versuch II) auf die Lebensdauer von fes-Weibchen*

Versuch	Lebensdauer (Tage) bei Injektion von			
	Paragonialsekret		Kontroll-Lösung	
	N	*M* ± *m*	*N*	*M* ± *m*
I	9	25,23 ± 1,47	7	24,50 ± 1,22
II	13	24,78 ± 1,43	17	25,64 ± 0,92
I + II	22	24,97 ± 1,01	24	25,33 ± 0,71

Tabelle 10. *Wirkung eines vaginal injizierten Hoden-Extrakts auf die Lebensdauer von fes-Weibchen*

Lebensdauer (Tage) bei Injektion von			
Hoden-Extrakt		Kontroll-Lösung	
N	*M* ± *m*	*N*	*M* ± *m*
24	22,03 ± 1,37	29	25,57 ± 1,48

Die Extrakt-Injektion bewirkte eine statistisch gesicherte Lebensverkürzung ($t_{42} = 2{,}11$; $P < 0{,}05$), während die Kontrollserie gleich lange lebte, wie die Serien mit Paragonial-Injektionen im vorhergehenden Versuch (Tabelle 10).

6. Vorversuche mit operativer Beschränkung des Ejakulats

Leider fanden wir erst am Ende der experimentellen Arbeit die zuverlässigste Methode zur Analyse des männlichen Einflusses auf die Lebensdauer der Weibchen. Man kann einerseits den Ductus ejacula-

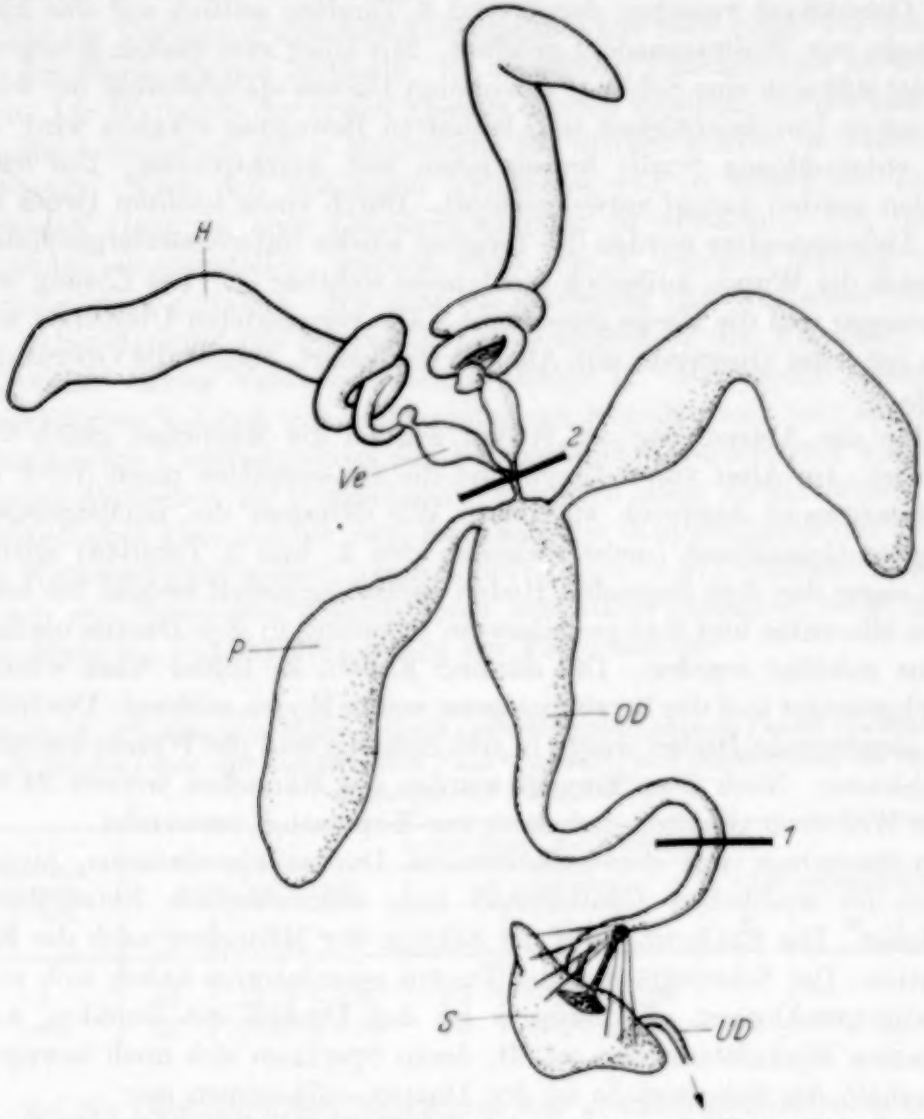


Abb. 6. Schema der operativen Einschränkung des Ejakulats. *1* Schnittstelle bei n-Männchen, *2* Schnittstelle bei p-Männchen. *H* Hoden, *Ve* Vas efferens, *P* Paragonium, *OD* Oberer und *UD* Unterer Ductus ejaculatorius, *S* Samenpumpe

torius und andererseits die Vasa efferentia der Männchen operativ durchtrennen, ohne damit ihre Kopulationsfähigkeit zu beeinträchtigen. Man erhält damit einerseits Männchen, die kein feststellbares Ejakulat abgeben, kurz n-Männchen, andererseits solche, die nur Paragonialsekret ejakulieren, kurz p-Männchen. Diese Technik ist einfacher und zuverlässiger als die vaginale Injektion. Abb. 6 gibt die Lage der Schnittstellen wieder.

Bei der Unterbrechung des Ductus ejaculatorius gingen wir folgendermaßen vor: Iso-8-Männchen im Alter von 2—5 Tagen wurden narkotisiert, im Wachsbett auf der linken Körperseite liegend fixiert (S. 663) und mit 0,8% NaCl-Lösung überdeckt. Bei 64facher Vergrößerung wurde die Gelenkhaut zwischen den 4. und 5. Tergiten seitlich auf eine kurze Strecke mit Wolframnadeln geöffnet. Mit einer zum Haken gebogenen Nadel läßt sich eine Schlinge des oberen Ductus ejaculatorius, der leicht an seiner Durchsichtigkeit und lebhaften Bewegung erkannt wird, aus der entstandenen Spalte herausziehen und durchtrennen. Die freien Enden werden darauf zurückgestopft. Durch einen leichten Druck auf die Abdomenspitze werden die Tergiten wieder untereinandergeschoben, wonach die Wunde äußerlich nicht mehr sichtbar ist. Die Lösung wird abgesogen und die Fliege getrocknet. Alle verwendeten Utensilien wurden vor jeder Operation mit Alkohol sterilisiert, ebenso die Operationsstelle.

Für die Abtrennung der Hoden wurden die Männchen gleich vorbereitet. Im Alter von 4 Tagen sind die Hodenspitzen meist durch die Abdomenwand hindurch sichtbar. Wir öffneten die nächstgelegene Tergiten-Gelenkhaut (meist zwischen den 2. und 3. Tergiten) seitlich und zogen den dort liegenden Hoden vorsichtig soweit heraus, bis beide Vasa efferentia und ihre gemeinsame Mündung in den Ductus ejaculatorius sichtbar wurden. Die dünnen Endstücke beider Vasa wurden durchgetrennt und der herausgezogene rechte Hoden entfernt. Der linke, nur abgetrennte Hoden wurde in situ belassen und die Wunde wie oben geschlossen. Nach dem Eingriff wurden die Männchen weitere 24 Std ohne Weibchen gehalten und dann zur Kopulation verwendet.

n-Männchen, mit durchschnittenem Ductus ejaculatorius, hinterlassen im weiblichen Genitaltrakt kein mikroskopisch feststellbares Ejakulat. Die Erklärung gibt die Sektion der Männchen nach der Kopulation: Die Schnittflächen des Ductus ejaculatorius haben sich vollständig geschlossen. Hodenwärts ist der Ductus mit dunklen, aufgestauten Ejakulatsmassen gefüllt, deren Spermien sich noch bewegen. Unterhalb der Schnittstelle ist der Ductus vollkommen leer.

Seziert man Weibchen nach der Kopulation mit p-Männchen, so findet man, wie erwartet, ein flüssiges, spermienfreies Ejakulat. Die Sektion der Männchen beweist, daß der Inhalt der Paragonien frei in den Ductus ejaculatorius übertreten kann, was sich durch Deckglasdruck demonstrieren läßt. Die Schnittflächen der Vasa efferentia haben sich geschlossen, der Ductus ejaculatorius ist leer. Das Ejakulat besteht daher mit größter Wahrscheinlichkeit aus dem Sekret der Paragonien. Nach der Kopulation mit p-Männchen enthielten alle sezierten Weibchen nur ungefähr $^1/_3$ der Ejakulatsmasse, die wir nach einer Kopulation mit fertilen oder mit xo-Männchen fanden. Danach scheinen die Hoden

einen mengenmäßig wesentlichen Anteil beizusteuern, der im Falle der xo-Männchen flüssig sein müßte. Vielleicht ist dies der lebensverkürzende Ejakulatsanteil, auf den wir beim Vergleich der *transformer*- und xo-Männchen und ihrer Wirkung auf die Lebensdauer schlossen.

Die zur Verfügung stehende Zeit erlaubte nur noch einen Vorversuch mit der beschriebenen Methode. Er umfaßte 3 Flaschen mit *fes*-Weibchen. Die Weibchen der ersten Flasche blieben virginell, die der zweiten Flasche kopulierten mit n-Männchen; der dritten wurden p-Männchen zugesetzt. Nach den bisherigen Versuchen war in keiner der kopulierenden Gruppen eine Lebensverkürzung zu erwarten. Um dieses Ergebnis sicherzustellen, wurden nicht nur 3, sondern beliebig viele Kopulationen gestattet. Bis zum 22. Lebenstag der Weibchen hielten wir daher dauernd ein Männchen pro Weibchen in den Flaschen. Die Ergebnisse beider Versuche enthält Tabelle 11. Bei einem zusätzlich ausgeführten Versuch mit 3 ejakulatslosen Kopulationen war ein nicht signifikanter Unterschied in der Lebensdauer kopulierender und virgineller Weibchen zu verzeichnen. Entgegen allen Erwartungen verkürzten aber viele solcher rein mechanischer Kopulationen das Leben der Weibchen ganz massiv, nämlich um $^1/_3$ ($t_{33} = 5{,}97$), während Kopulationen mit Paragonial-Ejakulat eine wesentlich geringere, nicht mehr gesicherte ($t_{43} = 1{,}93$) Verkürzung zur Folge hatten.

Tabelle 11. *Wirkung von Männchen mit operativ unterbrochenem Ductus ejaculatorius (n-Männchen) bzw. mit durchtrennten Vasa efferentia (p-Männchen) auf die Lebensdauer von fes-Weibchen*

Zahl der Kopulationen	Lebensdauer der Weibchen					
	ohne Männchen		mit n-Männchen		mit p-Männchen	
	N	$M \pm m$	N	$M \pm m$	N	$M \pm m$
3	25	$33{,}01 \pm 1{,}67$	13	$30{,}38 \pm 2{,}29$		
viele	22	$30{,}82 \pm 0{,}89$	12	$21{,}08 \pm 1{,}38$	22	$27{,}45 \pm 1{,}49$

Bei der Deutung dieser Ergebnisse war uns eine Beobachtung behilflich, die wir bei den Versuchen über die Anregung der Eiproduktion gemacht hatten. Nicht operierte, fertile iso-8-Männchen kopulierten im Mittel $23{,}36 \pm 0{,}41$ min ($N = 11$), p-Männchen desselben Stammes $24{,}71 \pm 1{,}16$ min ($N = 14$), n-Männchen aber nur $18{,}04 \pm 1{,}46$ min ($N = 48$). Während die ersten beiden Männchentypen nach der Kopulation ruhen und sich putzen, balzen die Männchen der dritten Gruppe unmittelbar nach der Kopulation mit unverminderter Heftigkeit weiter, obwohl das Weibchen eine weitere Begattung meist deutlich ablehnt. Daraus ist zu schließen, daß die Reizschwelle des sexuell aktiven Männchens nicht durch äußere Kopulationsreize gehoben wird, sondern durch

die Perzeption des abfließenden Ejakulats. Bei n-Männchen ist daher eine weit höhere Kopulationsfrequenz zu erwarten als bei Männchen, die ejakulieren können. Im zweiten Versuch (Tabelle 11) konnte auch wirklich eine übernormale Balztätigkeit der n-Männchen beobachtet werden. Homosexuelle Kopulationsversuche waren häufig. Die Männchen erhoben sich auch gegeneinander in heftigem Scheinkampf, was wir sonst nie beobachten konnten.

Der zweite Versuch in Tabelle 11 läßt sich auf Grund dieser Beobachtungen deuten. Offensichtlich verkürzt auch die ejakulatslose Kopulation das Leben der Weibchen, und zwar um so stärker, je mehr Kopulationen stattfinden. Da n-Männchen sexuell aktiver sind als p-Männchen, hat die zweite Weibchenserie die massivste Lebensverkürzung erfahren. Die Weibchen, die mit den hodenoperierten p-Männchen lebten, starben ebenfalls früher. Ihre mittlere Lebensdauer ist bei einer großen Zahl von Kopulationen nur um 10,9% geringer als die der virginellen Kontrollen. Bei früheren Versuchen fanden wir, daß 3 vollwertige Besamungen das Leben der Weibchen um 15% verkürzen. Die Wirkung des mechanischen Vorgangs kann also nicht mit derjenigen der vollen Kopulation identisch sein. Vielmehr existiert neben der bisher untersuchten starken Wirkung des Hoden-Ejakulats eine schwache Wirkung der mechanischen Kopula. Für eine lebensverkürzende Wirkung des Paragonialsekrets lassen die Ergebnisse keine Möglichkeit offen, was mit unseren früheren Ergebnissen übereinstimmt.

7. Mechanische Schadenwirkung der Kopula

Für die lebensverkürzende Wirkung des ejakulatsfreien Kopulationsvorgangs sind 2 Erklärungen denkbar. Man könnte sich eine das Altern fördernde Wirkung der nervösen Perzeption vorstellen. Der Frühtod wäre dann die Folge einer Altersveränderung des Zentralnervensystems. Es wäre ferner möglich, daß die Kopulation das Weibchen mechanisch schädigt.

Einen Hinweis auf die zweite Erklärung geben unsere Beobachtungen über „Kopulations-Narben". Bei den Weibchen, die mit n-Männchen gehalten wurden, fanden wir auf der Innenseite des Ovipositors schwarze Flecken, wie sie *Drosophila* an allen verletzten Stellen ausbildet. Diese Wundflecke sind von außen durch die Vaginalplatten hindurch sichtbar. Bei den virginellen Kontrollen fanden wir in keinem einzigen Fall dunkle Verfärbungen. Bei den Weibchen, die nur 3 Kopulationen mit n-Männchen hinter sich hatten, stellten wir in mehreren Fällen schwache, hellbraune Flecken auf der Innenseite des Ovipositors fest.

Die Anordnung und Größe dieser Narben (Abb. 7) deutet darauf hin, daß die ausgeschwenkten Parameren des Männchens Verletzungen hinterlassen. Die Parameren sind mit Höckern besetzte, chitinisierte

Organe, die sich vom Penis aus seitlich abspreizen und als Antagonisten der Forcipes das Weibchen festhalten. Bei manchen Weibchen sind 2—3 hintereinander liegende Narbenpaare vorhanden, was auf mehrere Kopulationen schließen läßt.

Wir verfolgten nun die Bildung der Narben in einem Versuch mit nicht operierten Männchen. Es sollte dabei auch geprüft werden, ob *transformer*-Männchen, deren Kopulation sich als unschädlich erwiesen hatte (S. 662), ebenfalls Narben erzeugen. In 3 Flaschen wurden je 10 virginelle *y*/*y*-Weibchen gesetzt. Der ersten Flasche wurden außerdem 10 *transformer*-Männchen zugegeben, der zweiten 10 *y*/*y*-Männchen. Die Weibchen in der dritten Flasche blieben ohne Männchen. Nach 10 und nach 20 Tagen wurden alle Weibchen narkotisiert und auf Narben untersucht. Schon nach 10 Tagen waren bei 64facher Vergrößerung bei allen mit Männchen lebenden Weibchen Spuren von Narben zu finden, die sich bis zum 20. Tag vermehrten und noch dunkler färbten. Die *transformer*-Männchen erzeugten deutlich stärkere Narben als die fertilen Männchen. Bei den virginellen Weibchen wurde nur ein Fall mit einem narbenähnlichen Fleck beobachtet.

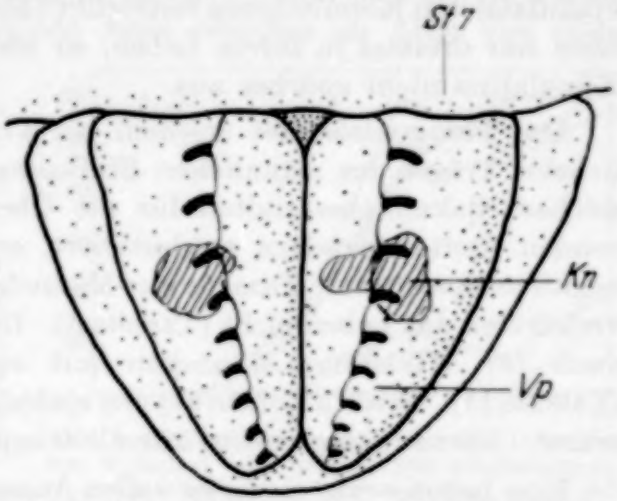


Abb. 7. Typisches Muster innerer Kopulationsnarben (*Kn*, schraffiert), die von außen durch die Vaginalplatten (*Vp*) hindurch sichtbar sind. *St 7* 7. Sternit

Kopulationsnarben sind demnach eine normale Erscheinung. Vielleicht sind sie die Ursache der beobachteten Lebensverkürzung durch n-Männchen (Tabelle 11). Bei nur 3 Kopulationen während des ganzen Lebens sind aber diese Schäden zu geringfügig, um die Lebensdauer merklich herabzusetzen, wie der Versuch mit *transformer*-Männchen (Tabelle 6) gezeigt hat.

8. Diskussion

Die Versuche dieses Kapitels bestätigen die Hypothese eines direkten lebensverkürzenden Einflusses der Männchen auf die Weibchen. Eine bestimmte Anzahl von Kopulationen setzte die Lebensdauer fertiler und genetisch steriler Weibchen prozentual gleich stark herab (Tabelle 2). Es zeigte sich auch, daß die Spermien von sterilen Weibchen in derselben Weise und gleich lange gespeichert werden wie von fertilen Weibchen (Tabelle 3). Es schien daher erlaubt, die Natur des männlichen Ein-

flusses an den sterilen Weibchen zu untersuchen. Als mögliche Träger dieses Einflusses wurden die Balz, der mechanische Vorgang der Kopulation, das Sekret der Paragonien und der Ejakulatsanteil der Hoden in Betracht gezogen. Die Verwendung von Männchen mit verschlossener Genitalöffnung ergab, daß die Lebensdauer durch die Balz nicht verändert wird (S. 659). Da besamte Weibchen träger sind als virginelle (Tabelle 4), kann auch übermäßige Bewegung nicht die Ursache des Frühtodes sein. Beim Kopulationsvorgang hinterlassen die Männchen Wunden im Genitaltrakt des Weibchens (Abb. 7). Diese Verletzungen sind vielleicht an der Lebensverkürzung schuld, die man nach sehr vielen ejakulatslosen Kopulationen feststellt (Tabelle 11). Kopulieren die Weibchen nur dreimal in ihrem Leben, so wirkt sich die rein mechanische Kopulation nicht spürbar aus.

Das Paragonialsekret erschien bei Versuchsbeginn als wahrscheinlichster Träger des männlichen Einflusses. Es ist als flüssiger, eiweißreicher Ejakulatsbestandteil für die Übertragung eines lebensverkürzenden Stoffes geradezu prädestiniert, ergab aber in allen Versuchen negative Resultate: *Transformer*-Männchen mit rudimentären Hoden verkürzten das Leben nicht (Tabelle 6). Das gilt nach einem Vorversuch auch für Wildstamm-Männchen mit operativ abgetrennten Hoden (Tabelle 11). Beide Männchentypen ejakulieren nachweislich Paragonialsekret. Ebensowenig wirkte künstlich injiziertes Sekret (Tabelle 9).

Eine Lebensverkürzung im vollen Ausmaß trat aber ein, als xo-Männchen mit vollständig ausgebildeten Hoden geprüft wurden, obwohl hier die Spermien degenerieren, bevor sie die Hoden verlassen (Tabelle 7). Vaginale Injektion eines wäßrigen Hodenextrakts scheint die Lebensdauer ebenfalls zu verkürzen (Tabelle 10). Die Hauptursache des frühen Absterbens kopulierender *Drosophila*-Weibchen muß demnach ein aus den Hoden stammender Ejakulatsanteil sein. Darin stimmen alle unsere Ergebnisse überein.

Der im Hodenejakulat enthaltene hypothetische Wirkstoff ist möglicherweise an die Spermien gebunden. Bei den xo-Männchen hätte er dann allerdings deren Abbau unbeschadet zu überstehen und das Degenerat müßte ejakuliert werden. Die andere Möglichkeit ist die, daß sowohl normale wie auch xo-Hoden einen unbekannten flüssigen Ejakulatsanteil absondern, der den lebensverkürzenden Wirkstoff enthält.

V. Die Stimulation der Eiablage durch die Männchen

Die im Zusammenleben der Geschlechter wirksamen Faktoren verkürzen nicht nur die Lebensdauer des Weibchens, sie treiben auch seine Eiproduktion in raschem Anstieg dem Maximum zu, während bei einzeln lebenden Weibchen die Eiablage nur sehr langsam in Gang kommt.

Auch dieser Einfluß ist bei den Insekten eine verbreitete Erscheinung, wie die eingangs zitierten Arbeiten (S. 643) zeigen. Mit den im vorhergehenden Kapitel angewandten Methoden sollte sich leicht feststellen lassen, mit welchen Mitteln die Eiablage vom Männchen beeinflußt wird. Wir prüfen zuerst die Rolle der Balz und vervollständigen dann die Reizkombination schrittweise, vorerst um die mechanische Wirkung der Kopulation, dann um den Einfluß des Paragonialsekrets. Männchen und Weibchen werden stets ohne Narkose zusammengegeben und getrennt.

1. Die Wirkung der Balz

20 virginelle iso-8-Weibchen pro Serie wurden einzeln in Tuben gesetzt. Die Weibchen der ersten Serie erhielten im Alter von etwa 30 Std je 3 iso-8-Männchen. Bis zur Kopulation verging im Durchschnitt eine Stunde intensiver Balz. Nach 2 Std wurden alle Männchen entfernt. 7 Weibchen hatten in dieser Zeit nicht kopuliert und wurden als zusätzliche Serie verwendet. Den Weibchen der dritten Serie setzten wir sofort nach dem Schlüpfen je 2 iso-8-Männchen zu, mit denen sie während der ganzen Versuchsdauer zusammenlebten. In einer vierten Serie geschah dasselbe mit xo-Männchen. Eine letzte Serie diente als Kontrolle und blieb unbesamt. Alle 24 Std wurden die Eier gezählt und das Futter ausgewechselt.

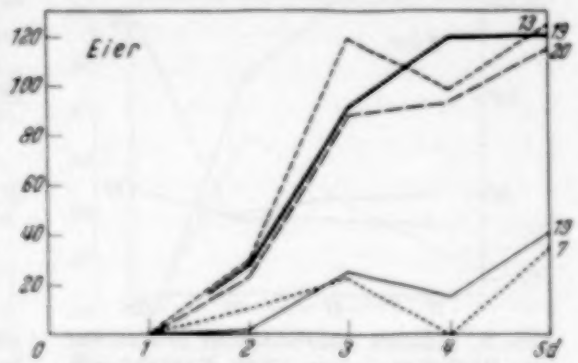


Abb. 8. Mittlere tägliche Eiproduktion (Ordinate) von Weibchen —— ohne Kontakt mit Männchen, · · · · · · mit 2stündiger Balz am 1. Tag, · · · · · mit einer Kopulation am 1. Tag, — — — bei dauernder Anwesenheit eines xo-Männchens, ——— eines fertilen Männchens. Abszisse: Alter in Tage (d). *N* an den Kurvenenden

Aus den Eilegekurven (Abb. 8) geht hervor, daß eine einzige Kopulation nach durchschnittlich einstündiger Balz bereits ein vollwertiges Stimulans ist, dessen Wirkung durch Wiederholung nicht mehr gesteigert werden kann. xo-Männchen erzielten eine volle Stimulation. Zweistündige Balz ohne Kopulation hat keine Wirkung. Man könnte einwenden, daß Weibchen, die die Kopulation verweigern, auch für die stimulierenden Reize der Balz noch nicht empfänglich seien, doch wird dieser Einwand durch die nun folgenden Versuche gegenstandslos. Das wichtigste und mit großer Wahrscheinlichkeit einzige Stimulans der Eiablage ist die Kopulation.

2. Die Wirkung der ejakulatsfreien Kopula

Bei diesen Versuchen galt es, die mechanischen und vermutlich zum größten Teil nervös perzipierten Komponenten der Kopulation auf ihre

stimulierende Wirkung zu prüfen. Zweimal 10 unbesamte iso-8-Weibchen wurden im Alter von 8 Tagen einzeln in Tuben gesetzt. Am 10. Tag gaben wir den Weibchen der ersten Zehnergruppe je 1 „n-Männchen" mit operativ unterbrochenem Ductus ejaculatorius bei (S. 666). Nach Balzzeiten von 5—90 min kopulierten alle Paare, und die Männchen wurden entfernt. Wie die Eilegekurven der Abb. 9 zeigen, blieb jede Reaktion aus. Um sicherzugehen, daß die geprüften Weibchen normal reaktionsfähig waren, wurde am Abend des 16. Tages bei der kopulierten Gruppe der vollständige Reiz geboten, eine Kopulation mit normalen iso-8-Männchen. Die Eizahlkurve stieg sofort an. Der einmalige, mechanisch normale (S. 669) Kopulationsablauf enthält somit keine

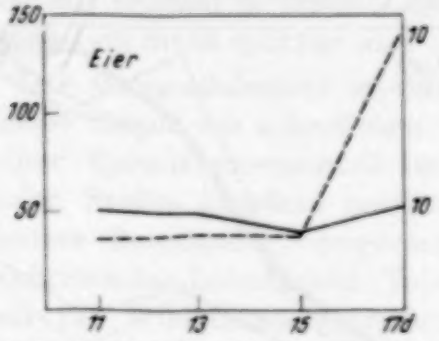


Abb. 9. Mittlere Eiproduktion pro 48 Std von Weibchen ——— ohne Kontakt mit Männchen und – – – Weibchen mit einer ejakulatslosen Kopulation am 10. und einer vollständigen Kopulation am 16. Tag. *N* an den Kurvenenden

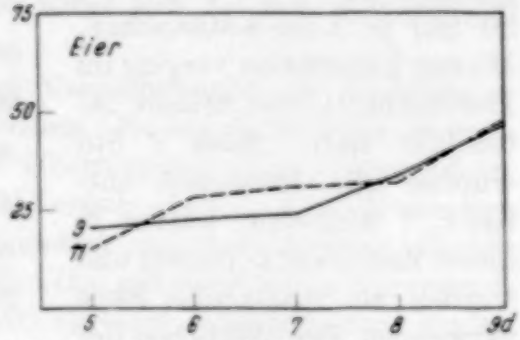


Abb. 10. Mittlere Eiproduktion pro 24 Std bei Weibchen ——— ohne Kontakt mit Männchen und – – – nach 24stündigem Kontakt mit n-Männchen. *N* am Kurvenbeginn

Reize, die für sich allein die Legetätigkeit steigern können. Ob dies einem mehrmaligen Ablauf zusammen mit anhaltender Balz gelinge, mußte ein weiterer Versuch abklären: Je 2 n-Männchen, deren besonders hohe sexuelle Aktivität wir bereits kannten (S. 667), wirkten 24 Std lang auf 6 Tage alte Weibchen ein. Auch hier ließ sich keine Stimulation feststellen (Abb. 10). Es darf daher angenommen werden, daß weder die Balz noch der Kopulationsablauf ohne Ejakulatswirkung für die Steigerung der Eiproduktion bei besamten Weibchen verantwortlich ist.

3. Die Rolle des Paragonialsekrets

Die bisher berücksichtigten Reize werden wahrscheinlich rein nervös perzipiert. Im nächsten Versuch fügen wir einen ersten Ejakulatsanteil hinzu. Das Paragonialsekret könnte auf Grund seiner chemischen Zusammensetzung auf die Eiablage wirken, oder aber rein mechanisch als Füllmasse im Genitaltrakt des Weibchens.

Das Ejakulat der „p-Männchen" mit operativ durchtrennten Vasa efferentia (S. 666) umfaßt nur etwa $^1/_3$ der normalen Ejakulatsmasse. Neben den Versuchen mit einer einzigen Kopulation (Abb. 11) wurde daher wiederum eine zweite Reihe durchgeführt, bei welcher jedes

Weibchen während 24 Std zu 2—3 frischen p-Männchen gesetzt wurde. Aus zufälligen Beobachtungen läßt sich auf ein Minimum von etwa 2 Kopulationen während dieser Zeit schließen. Die beiden Versuchsreihen entsprechen den im letzten Abschnitt beschriebenen mit n-Männchen, außer daß in der zweiten Reihe neben den virginellen Kontrollen noch eine Serie mit vollwertigen Männchen geführt wurde. Die Eilegekurven des ersten Versuchs (Abb. 11) zeigen, daß ein einziges Ejakulat zur Stimulation nicht genügt. Wenn also das Paragonialsekret überhaupt ein spezifisches chemisches Stimulans enthält, so setzt seine Wirkung erst bei einer Dosis ein, die recht nahe bei der normalen Menge liegt, oder sie ist an die Mitwirkung eines aus den Hoden stammenden Faktors gebunden.

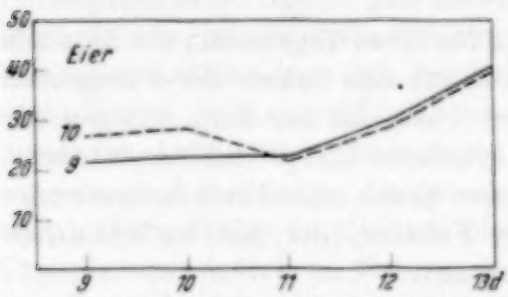


Abb. 11. Mittlere tägliche Eiproduktion bei Weibchen ——— ohne Kontakt mit Männchen, – – – Weibchen mit einer nur Paragonialsekret übertragenden Kopulation (p-Männchen) am 10. Tag. *N* am Kurvenbeginn

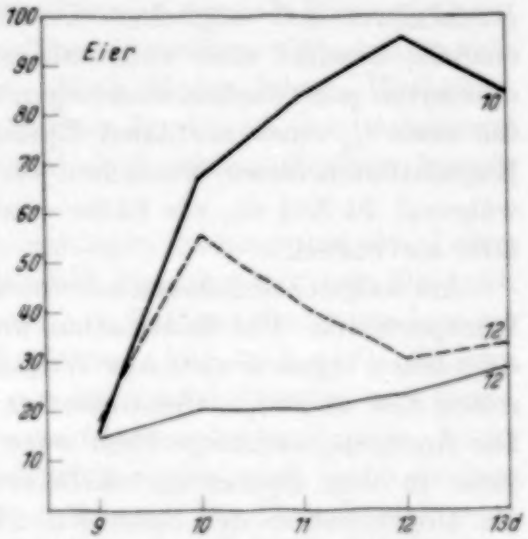


Abb. 12. Mittlere tägliche Eiproduktion bei Weibchen ——— ohne Kontakt mit Männchen, – – – nach 24stündigem Kontakt mit p-Männchen und ——— mit fertilen Männchen am 9. Tag. *N* an den Kurvenenden

Anders ist das Resultat bei mehreren Kopulationen und einer 24stündigen Anwesenheit der p-Männchen (Abb. 12). Die Eikurve steigt jetzt deutlich an. Sie vermag aber der Eiproduktion normal kopulierender Weibchen nur während der ersten 24 Std zu folgen und fällt dann rasch auf die Werte der virginellen Weibchen zurück. Die Stimulation durch ein vollständiges Ejakulat hält dagegen über eine Woche an, ungefähr ebenso lange, wie die Produktion besamter Eier. Dieselbe intermediäre Wirkung erzielten wir in einem früheren Versuch mit iso-8-Weibchen, denen wir am 5. Imaginaltag je ein *transformer*-Männchen zusetzten. Am 7. Imaginaltag legten diese Weibchen $62{,}4 \pm 6{,}9$ Eier ($n = 7$), die gleichzeitig geführten virginellen Kontrollen nur $28{,}4 \pm 11{,}3$ Eier ($n = 8$).

4. Diskussion

Unsere Versuche sollten unter den vom Männchen ausgehenden Einflüssen die Faktoren finden, welche die Eiproduktion des Weibchens

stimulieren. Die Balz und der ejakulatslose Vorgang der Kopulation haben sich als wirkungslos erwiesen. Aus den Versuchen mit xo-Männchen geht andererseits hervor, daß lebende oder auch nur intakte Spermien für die Anregung nicht notwendig sind. Dies stimmt mit den Ergebnissen von HANSON u. FERRIS (1929) überein, die bei röntgensterilisierten Männchen die Fähigkeit zu annähernd normaler Stimulation fanden. Der wirksame Faktor muß also im flüssigen Anteil des Ejakulats lokalisiert sein.

Das mengenmäßig normale Ejakulat der xo-Männchen, das Paragonialsekret und möglicherweise Hodensekrete mit Spermiendegenerat enthält, bewirkt eine vollständige und anhaltende Stimulation. Die operierten p-Männchen übertragen nur Paragonialsekret in einer Menge, die etwa $^1/_3$ eines normalen Ejakulats ausmacht. Nach wiederholten Kopulationen dieser Männchen verläuft die Eilegekurve der Weibchen während 24 Std so, als hätte eine Stimulation stattgefunden. Dann fällt sie zurück.

Am wahrscheinlichsten scheint uns für diese Ergebnisse die folgende Interpretation: Die Stimulation wird durch das Sekret der Paragonien eingeleitet. Dabei wird das Weibchen vielleicht nur zum Ablegen der reifen Eier angeregt, nicht aber zu vermehrter Eierproduktion im Ovar. Die Anregung auf lange Frist wäre dann Sache eines Hodensekrets oder eines in den Spermien lokalisierten Faktors, der bei xo-Männchen die Degeneration der Spermien übersteht.

Zur Einleitung der Stimulation brauchten die p-Männchen wohl deshalb mehrere Kopulationen, weil ihr Ejakulat eine subnormale Menge Paragonialsekret enthält. Offenbar können sich die Wirkungen mehrerer Ejakulate summieren. Da das übertragene Sekret schon nach kurzer Zeit aus der Vagina verschwindet (S. 656), kommt eine direkte Addition der Füllmassen kaum in Frage. Summiert werden wahrscheinlich die Füllreize oder aber eine im Paragonialsekret enthaltene stimulierende Substanz.

Sowohl die lebensverkürzende Wirkung wie die Stimulation der Eiablage geht nach unseren Ergebnissen von einem unbekannten Sekret der Hoden aus, das bei der Kopulation übertragen wird. Ein und derselbe Wirkstoff könnte also beide Veränderungen hervorbringen. Es ist denkbar, daß eine im Hoden produzierte Substanz das Weibchen in einen besonderen physiologischen Zustand versetzt, dessen äußere Kennzeichen Trägheit, starke Legetätigkeit und frühes Absterben sind. Diese Symptome bedingen sich offenbar nicht gegenseitig, sondern beruhen auf einer gemeinsamen Ursache.

VI. Allgemeine Befunde

Seit langem weiß man von Insektenarten verschiedener systematischer Ordnungen, daß die Anwesenheit der Männchen das Leben der Weibchen

abkürzt, ihre Eiproduktion dagegen erhöht (S. 643). Meist wird angenommen, der männliche Einfluß beschränke sich auf die Anregung der Eiablage. Für den frühen Tod der Weibchen wird die gesteigerte Leistung ihrer Ovarien verantwortlich gemacht. Dies entspricht der alten Rate of Living-Theorie von PEARL, wonach eine Beschleunigung der Lebensvorgänge allgemein die Lebensdauer herabsetzt. In der vorliegenden Arbeit wird die Richtigkeit dieser Interpretation für *Drosophila melanogaster* experimentell geprüft.

Vorerst implantierten wir genetisch sterilen Weibchen der Konstitution *fes/fes* fertile Ovaranlagen, in denen darauf normale Eier aufgebaut wurden. Entgegen der Rate of Living-Theorie *verlängert diese zusätzliche Leistung das Leben* der Wirtsfliegen. Noch länger lebten Weibchen, deren Implantat Anschluß an den Eileiter fand und eine annähernd normale Zahl von Eiern aufbauen und nach außen abgeben konnte (Abb. 2, S. 647).

Implantierte Augen- und Antennenanlagen verlängerten das Leben in ähnlichem Ausmaß wie Ovarien ohne Verbindung mit dem Ovidukt. Weibchen mit gleich großen Implantaten von Fettgewebe lebten dagegen nicht länger als Kontrolltiere ohne Implantat (Abb. 3, S. 649). Es wird vermutet, daß nicht nur der Aufbau von imaginalen Ovarien und Eiern, sondern *auch von andern Imaginalorganen lebensverlängernd wirkt*. Nicht entwicklungsfähige Implantate bleiben wirkungslos, auch wenn sie dem Organismus zusätzliche Reservestoffe zuführen. Die Mortalitätskurven der Transplantationsserien (Abb. 3) erlauben den Schluß, daß ein Implantat solange die eigentlich fälligen Todesfälle um einige Tage hinausschiebt, als seine Zellen sich noch lebhaft teilen: Augen- und Antennen-Implantate haben diese Wirkung nur im frühen Imaginalleben, während die Wirkung der Ovarien bis ins hohe Alter anhält.

In Versuchen von SMITH (1958) schien sich die Theorie von der lebensverkürzenden Wirkung der Eiproduktion entgegen unsern Ergebnissen zu bestätigen: Weibchen, deren Ovarfunktion durch vorübergehende Temperaturerhöhung herabgesetzt wurde, lebten länger als Weibchen mit normaler Eizahl. Unsere Versuche zeigten, daß der Unterschied in der Lebensdauer nicht auf einer Wirkung der Eiproduktion beruht, sondern auf verschiedener Dosierung des lebensverkürzenden Einflusses der Kopulation: Gibt man überhaupt keine Männchen zu, so leben wärmebehandelte Weibchen trotz geringerer Eizahl *gleich lange* wie unbehandelte Kontrollen (Abb. 4 u. 5, S. 651).

Die Eiproduktion fertiler Weibchen bleibt auch dann gering, wenn ihnen ein überzähliges Ovar implantiert wird. Die Lebensdauer wird auch durch diesen Eingriff nicht signifikant geändert (Tabelle 1, S. 652). Es scheint daher möglich, *daß eine mäßige Eiproduktion verglichen mit völliger Sterilität der Lebensdauer förderlich ist*, wie die ersten Versuche

zeigten (Abb. 2), *daß diese Wirkung aber bei weiterer Erhöhung der Eizahl aussetzt.*

Das kürzere Leben von Weibchen im Kontakt mit Männchen läßt sich also nicht durch ihre Legetätigkeit erklären. Es wurde daher nach den direkten Einwirkungen des Männchens gesucht, die für die Lebensverkürzung bei den Weibchen verantwortlich sein müssen. Um störende Einflüsse der Eiproduktion zu vermeiden, wurden hiefür genetisch sterile *fes*/*fes*-Weibchen verwendet.

Die Versuche zeigten zunächst, daß sowohl bei fertilen Weibchen wie bei genetisch sterilen *fes*/*fes*-Weibchen jede Kopulation die Lebenserwartung um etwa 5% herabsetzt, unabhängig von der stammspezifischen absoluten Lebensdauer (Tabelle 2, S. 655). Die Hypothese eines lebensverkürzenden Einflusses der Eiproduktion ist damit erneut widerlegt. Die beiden Weibchentypen speichern die Spermien zudem gleich lange und in denselben Teilen des Genitaltrakts (Tabelle 3, S. 656). Auf Grund dieser Übereinstimmungen darf angenommen werden, daß die folgenden Befunde an *fes*/*fes*-Weibchen auch für die Reaktionen der Wildtyp-Weibchen gelten.

Unsere erste Hypothese, wonach eine vermehrte Aktivität infolge der Balz die Lebensverkürzung verursachen könnte, wurde widerlegt: Mit Männchen lebende Weibchen bewegen sich nicht intensiver, sondern sind wesentlich träger als virginelle Kontrollen (Tabelle 4 u. 5, S. 658).

Die Balz konnte als Träger des fraglichen Verkürzungsfaktors ebenfalls ausgeschieden werden (S. 659f.).

Der männliche Einfluß wurde nun stufenweise vervollständigt, zunächst um den rein mechanisch-nervösen Kopulationsvorgang ohne Ejakulat. Hiefür wurden Männchen mit operativ unterbrochenem Vas deferens verwendet. Der ejakulatslose Kopulationsablauf verkürzt das Leben der Weibchen nur bei sehr vielen Wiederholungen merklich (Tabelle 11, S. 667), kann also mit dem gesuchten, weit wirksameren Faktor nicht identisch sein. Er hinterläßt Narben, die möglicherweise für diese Verkürzung verantwortlich sind (Abb. 6, S. 665).

Mit 3 Methoden wurde sodann das Sekret der Paragonien geprüft, das den Hauptanteil des flüssigen Ejakulats darstellt. Weder die künstliche Injektion des Sekrets (Tabelle 9, S. 664), noch das natürlich übertragene Ejakulat von Männchen mit verkümmerten (Tabelle 6, S. 660) oder von ihren Ausführgängen operativ getrennten Hoden (Tabelle 11, S. 667) führte zu einer Reduktion der Lebensdauer bei den Weibchen. Der Verkürzungsfaktor wurde daher in einem Ejakulatsanteil der Hoden vermutet.

Bei den von uns verwendeten xo-Männchen degenerieren die Spermien, bevor sie die an sich normal entwickelten Hoden verlassen. Das Ejakulat

enthält daher keine Spermien. Dennoch senkt die Kopulation mit solchen Männchen die Lebenserwartung der Weibchen im selben Maß wie diejenige mit fertilen Männchen (Tabelle 7, S. 661). Vaginale Injektion eines wäßrigen Extraktes fertiler Hoden wirkte ebenfalls lebensverkürzend (Tabelle 10, S. 664). Lebende oder auch nur intakte Spermien sind daher für die Lebensverkürzung nicht erforderlich. Nach unsern Ergebnissen *ist der Träger des lebensverkürzenden Einflusses ein noch unbekannter, aus den Hoden stammender flüssiger Ejakulatsanteil*, oder aber ein Faktor, der zwar in den Spermien liegt, aber deren Abbau im xo-Hoden unbeschadet übersteht.

In einem dritten Teil der Arbeit wird untersucht, welcher männliche Einfluß bei fertilen Weibchen die Eiproduktion anregt. Durch Operation wurden wiederum bestimmte Teile des männlichen Genitaltrakts von den Ausführgängen abgeschnitten und damit das Ejakulat qualitativ eingeschränkt. Es zeigte sich, daß die Balz und Kopulationen ohne Ejakulat die Eiproduktion nicht zu beeinflussen vermögen (Abb. 8—10, S. 671 ff.). Dagegen kann das Paragonialsekret die Stimulation einleiten und etwa 24 Std weiterführen (Abb. 12, S. 673). Die anhaltende Erhöhung der Eiproduktion kommt nur unter Mitwirkung der Hodensekrete zustande. Da xo-Männchen eine vollständige Stimulation erzielen (Abb. 8, S. 671), dürfte der stimulierende Faktor wiederum in einem flüssigen Hodensekret oder in einem Bestandteil der Spermien liegen, der auch nach ihrer Degeneration noch wirksam ist.

Der lebensverkürzende und der die Eiproduktion stimulierende Faktor ließen sich also nach ihrer Herkunft nicht auseinanderhalten. Es wäre an sich möglich, daß ein und derselbe Hoden-Wirkstoff die Hochleistung der Ovarien und den frühen Tod der besamten Weibchen verursachte. Beide Erscheinungen könnten Kennzeichen eines besondern physiologischen Zustandes sein, in den der weibliche Organismus unter der Wirkung der Hodensekrete übertritt. Die Annahme einer gemeinsamen biochemischen Ursache von Frühtod und hoher Eiproduktion läßt sich aber durch die anscheinend gleiche Herkunft der Wirkstoffe nicht begründen. Dieser Herkunftsgleichheit steht die Tatsache gegenüber, daß die beiden Eingriffe des Männchens in den weiblichen Lebenslauf voneinander weitgehend unabhängig sind: Genetisch sterile Weibchen können auf die Stimulation zur Eiablage nicht antworten, reagieren aber ganz normal auf den lebensverkürzenden Einfluß. Dieser wirkt bis zu 3 Kopulationen offensichtlich dosisproportional, während die Beziehung zwischen Kopulationsfrequenz und Eizahl unübersichtlicher ist. Schließlich läßt sich die Eizahl steigern, ohne daß dadurch die Lebensdauer herabgesetzt würde. Ob die beschleunigenden Wirkungen der Kopulation auf die Ovarfunktion und den Lebensablauf auf eine gemeinsame Ursache zurückgehen, bleibt daher ungewiß.

Unsere Befunde zeigen, daß bei Lebensdauer-Untersuchungen an *Drosophila* und wahrscheinlich auch an andern Insekten die Geschlechter mit Vorteil getrennt werden. Fehler müssen sonst stets dann auftreten, wenn die Behandlung der Testserie (z. B. mit Roentgen, vgl. BOCHNIG et al. 1960) die Eiproduktion und besonders die sexuelle Aktivität gegenüber der Kontrollserie verändert.

Zusammenfassung

1. Eine ältere Theorie (PEARL 1920) besagt, daß erhöhte physiologische Leistungen die Lebensdauer eines Organismus herabsetzen. Nach dieser Anschauung sterben besamte *Drosophila*-Weibchen deshalb früher, weil sie mehr Eier legen als unbesamte Weibchen. Durch Transplantation fertiler Ovaranlagen in genetisch sterile Weibchen von *Drosophila melanogaster* kann gezeigt werden, daß die Eiproduktion das Leben im Gegenteil zu verlängern vermag. Auch der Aufbau implantierter Augen- und Antennenanlagen erhöht die Lebensdauer des Wirts. Zusätzlich implantiertes Fettgewebe hat dagegen keine Wirkung.

2. Es wird ein direkter, lebensverkürzender Einfluß der Männchen auf die Weibchen nachgewiesen. Pro Kopulation sinkt die Lebenserwartung um etwa 5%. Mit verschiedenen Methoden läßt sich dieser Einfluß als Wirkung flüssiger Hodensekrete bestimmen.

3. Die gesteigerte Eiablage besamter, fertiler Weibchen beruht ebenfalls auf der Wirkung von Hodensekreten. Paragonialsekret kann die Stimulation lediglich einleiten.

Literatur

ALPATOV, W. W.: Egg production in *Drosophila melanogaster* and some factors which influence it. J. exp. Zool. **63** (1932).

BILEWICZ, ST.: Experiments on the effect of reproductive functions on the length of life in *Drosophila melanogaster* (English Summary). Folia biol. **1** (1953).

BOCHNIG, V., H. LÜERS u. G. WINTERFELD: Die mittlere Lebensdauer von *Drosophila melanogaster* nach einmaliger Röntgenbestrahlung mit hohen Dosen. Zool. Beitr., N.F. **5**, 2—3 (1960).

EPHRUSSI, B., and G. W. BEADLE: A technique of transplantation in *Drosophila*. Amer. Naturalist **70** (1936).

FOX, A. S., C. C. MEAD and J. L. MUNYON: Sex peptide of *Drosophila melanogaster*. Science **129**, 3361 (1959).

—, and S.-B. YOON: Antigenic differences between males and females in *Drosophila* not attributable to the y-chromosome. Transplant. Bull. **5**, 1 (1958).

GOETSCH, W.: Untersuchungen über Behebung von Alterserscheinungen. Publ. Staz. zool. Napoli **27** (1955).

GOTTSCHEWSKI, G.: Künstliche Befruchtung bei *Drosophila*. Naturwissenschaften **25** (1937).

GRIFFITH, J. T., and O. E. TAUBER: Fecundity, longevity and parthenogenesis of the American roach, *Periplaneta americana L.* Physiol. Zool. **15** (1942).

HADORN, E., u. H. ZELLER: Fertilitätsstudien an *Drosophila melanogaster*. I. Untersuchungen zum altersbedingten Fertilitätsabfall. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **142** (1943).

HANSON, F. B., and F. R. FERRIS: A quantitative study of fecundity in *Drosophila melanogaster*. J. exp. Zool. **54** (1929).

MCARTHUR, J. W., and W. H. T. BAILLIE: Metabolic activity and duration of life. II. Metabolic rates and their relation to longevity in *Daphnia magna*. J. exp. Zool. **53** (1929).

MILANI, R.: Osservazioni sul corteggiamento di *Drosophila subobscura* Collin. Rendic. Cl. di Sci. **84** (1951).

MÜLLER, O.: Biologische Studien über den Frühen Kastanienwickler *Pammene juliana* und seine wirtschaftliche Bedeutung für den Kanton Tessin. Z. angew. Entomol. **41** (1957).

NONIDEZ, J. E.: The internal phenomena of reproduction in *Drosophila*. Biol. Bull. Woods Hole **39** (1920).

PEARL, R.: The biology of death. London 1920.

—, and S. L. PARKER: Experimental studies on the duration of life. V. Amer. Naturalist **56** (1922).

RAU, PH., and N. RAU: Longevity in Saturnid moths: An experimental study. J. exp. Zool. **12** (1912).

REIFF, M.: Fertilitätstypen bei Selektionsstämmen, ihr Verhalten bei Kreuzungen und Transplantationsversuchen. Rev. suisse Zool. **52** (1945).

RUBNER, M.: Das Problem der Lebensdauer. Berlin 1908.

SMITH, M. J.: The effects of temperature and of egg-laying on the longevity of *Drosophila subobscura*. J. exp. Zool. **35** (1958).

SPIETH, H.: Sexual behavior and isolation in *Drosophila*. I. The mating behavior of the *Willistoni*-group. Evolution **1** (1947).

— II. The interspecific mating behavior of the *Willistoni*-group. Evolution **3** (1949).

SZERBAKOW, A. P.: Lebensdauer und Stoffwechsel bei *Drosophila melanogaster*. Biol. generalis (Wien) **12** (1937).

Dr. HANS KUMMER, Zoologisch-vergleichend-anatomisches Institut der Universität, Zürich (Schweiz), Künstlergasse 16

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 680—686 (1960)

Aus dem Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen, Obb.

MENOTAXIS UND WINKELTRANSPONIEREN BEI KÖCHERFLIEGEN (TRICHOPTERA)

Von

RUDOLF JANDER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Juli 1960)

Einleitung

Die Entdeckung der Fähigkeit zum Winkeltransponieren bei Bienen (v. FRISCH 1946) und die Formulierung des „Reafferenzprinzips" (v. HOLST und MITTELSTAEDT 1950) gaben der Menotaxisforschung neue Antriebe. An Ameisen ließ sich zeigen (JANDER 1957), daß eine spontane Dreherregung, das Drehkommando, von einer Grundrichtung (vom und zum Reiz) um einen konstanten Winkelbetrag abdrängt und dadurch die Grundorientierung (positive und negative Geo- und Phototaxis) in die menotaktische Orientierung überführt. Hier soll geprüft werden, ob sich an Orientierungsreaktionen von Köcherfliegen Anhaltspunkte für das gleiche Funktionsprinzip finden lassen.

Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Methodik

Köcherfliegen (Imagines) aus der Gattung *Limnophilus* wurden kurz vor den Versuchen mit einem Netz gefangen. Die nachträgliche Bestimmung ergab folgende drei ähnliche Arten im Versuchsmaterial: *L. decipiens* KOL., *L. subcentralis* BRAU. und *L. flavicornis* FABR.[1] Da keines der Versuchstiere abweichendes Verhalten erkennen ließ, wird hier nur das Gesamtergebnis mitgeteilt.

Einzeltiere aus dem Fang wurden zufällig orientiert auf eine kippbare Weichfaserplatte (2 × 2 m) gesetzt. Laufwillige Tiere drehten sofort in eine bestimmte Richtung. Eine dieser Drehung folgende gerade Laufstrecke von rund 50 cm wurde mit zwei Stecknadeln markiert, und dann die Richtung dieser Nadeln bestimmt. Die so gemessenen Winkelwerte erscheinen in 5°-Klassen gruppiert in den Runddiagrammen der Abb. 1 und 3. Kontrollen zeigten, daß alle Tiere ihre Laufrichtungen relativ zur Reizrichtung über mehrere Läufe beibehielten. Die Läufe waren folglich orientiert und nicht zufällig gerichtet. In einer

[1] Herrn Dr. W. DÖHLER verdanke ich die freundliche Übernahme der schwierigen Bestimmung.

allseits grauen Dunkelkammer wurden Laufrichtungen unter folgenden vier Reizbedingungen bestimmt: A. Im Sukzessivversuch wurde entweder mit Licht oder mit Schwerkraft gereizt: 1. Die Laufplatte lag waagerecht; aus 2 m Entfernung strahlte horizontal eine 150 Watt-Reflektorbirne. 2. Die Platte hing lotrecht und wurde senkrecht aus 2 m Entfernung so schwach angestrahlt, daß die Laufrichtungen gerade noch gesehen werden konnten. B. In zwei Simultanversuchen hing die Platte lotrecht. In der Plattenebene strahlte horizontal aus 2 m Entfernung dieselbe Lichtquelle wie in A, entweder 1. mit voller Intensität oder 2. mit $^1/_{50}$ dieser Stärke durch Verminderung der Spannung über ein Potentiometer.

Die Reihenfolge der Bedingungen unter A und unter B wurde von Versuchstier zu Versuchstier gewechselt. Dieselben 56 Tiere wurden in allen Versuchen je einmal verwendet. Weitere 36 Versuchstiere waren nur im Sukzessivversuch laufwillig.

Ergebnisse

Sukzessivversuch. A, 1. Auf der horizontalen Ebene laufen die meisten (74%) Tiere in den Halbsektor in Richtung Lichtquelle, die übrigen in den entgegengesetzten Halbsektor (Abb. 1). Da die wenigsten Werte 90° zur Lichtrichtung liegen, kann von einer positiven und einer negativen phototaktischen Tendenz gesprochen werden. Werden die Winkelwerte entsprechend diesen beiden Tendenzen in zwei Gruppen zerlegt, dann streuen die Einzelwerte in den beiden Gruppen um die Grundrichtungen (zum Licht und weg von ihm) mit einer Standardabweichung σ von $\pm$ 38°. A, 2. Die Gruppierung in eine zur positiven und eine zur negativen Taxis tendierenden Schar ist deutlicher bei der Orientierung im Schwerefeld (Abb. 1b). Die Standardabweichung σ der Winkelwerte um die beiden Grundrichtungen (mit und gegen die Schwerkraftrichtung) ist in diesem Falle nur $\pm$ 24°.

Neben den Beträgen der Winkelabweichungen können die Vorzeichen der Taxien im Sukzessivversuch verglichen werden: Von den 68 positiv phototaktischen Tieren reagieren 48 negativ und 20 positiv geotaktisch (Unterschied signifikant, $p < 1\%$); und von den 24 negativ phototaktischen Tieren sind je 12 positiv und negativ geotaktisch. Eine vergleichbare Zuordnung von positiver Phototaxis und negativer Geotaxis ist von einer Reihe von Hymenopteren bekannt (Jander 1957, Jacobs-Jessen 1959).

Weitere Einblicke in den physiologischen Zusammenhang zwischen Photo- und Geotaxis ermöglicht der Vergleich individueller Winkelabweichungen von Grundrichtungen, dargestellt in der Vergleichstabelle in Abb. 2. Wie diese Tabelle zeigt, besteht eine enge Korrelation (Koeffizient $r = 0{,}68$) zwischen den Winkelabweichungen von den

Grundrichtungen bei der Lichtorientierung einerseits und der Schwereorientierung andererseits. Die somit nachgewiesenen gemeinsamen Ursachen dieser beiden Abweichungsgruppen, die Drehkommandos,

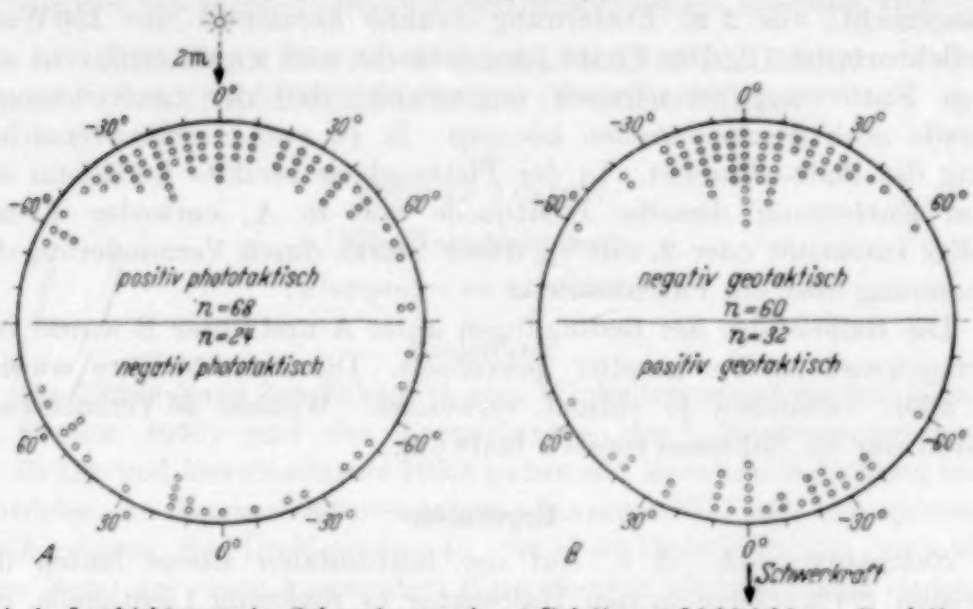


Abb. 1. Laufrichtungen im Sukzessivversuch. *A* Relativ zur Lichtrichtung, *B* relativ zur Schwerkraftrichtung, *n* Anzahl der Werte im Halbsektor

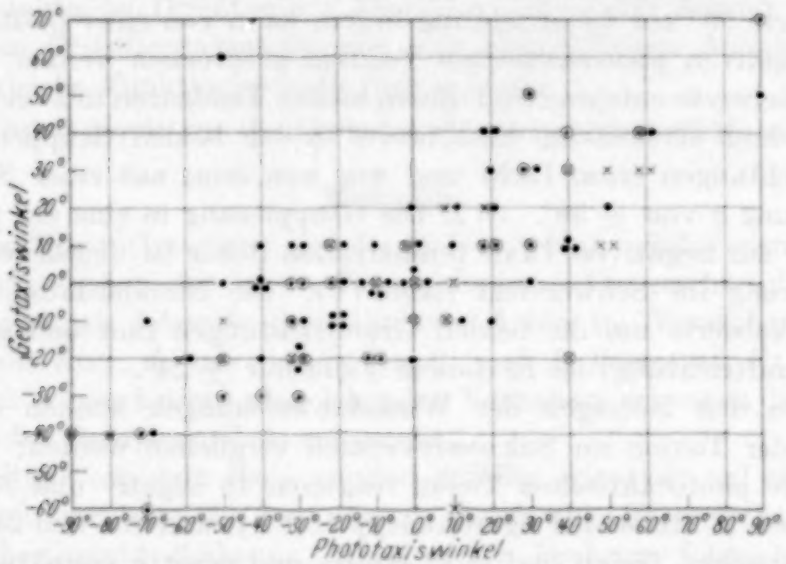


Abb. 2. Korrelationstabelle für die Geotaxis- und die Phototaxiswinkel. 0° ist die jeweilige Grundrichtung. Negative Werte sind Links-, positive Rechtsabweichungen. Punkte bedeuten positive, Kreuze negative Phototaxis. Eingekreiste Zeichen bedeuten positive, nicht eingekreiste negative Geotaxis

betragen $r^2 = 0{,}68^2 = 47\,\%$ der Gesamtursachen. Der für den hier beschriebenen Zusammenhang verantwortliche physiologische Vorgang wird Winkeltransponieren genannt (v. FRISCH 1946).

Wie aus der Zeichenverteilung in Abb. 2 folgt, kann das Vorzeichen der Photo- oder Geotaxis wechseln, ohne daß sich die ablenkende

Wirkung des Drehkommandos erkennbar ändert oder ausfällt: Die Punktgruppen der positiv phototaktischen und positiv oder negativ geotaktischen Individuen fallen in denselben Winkelbereich wie die der negativ phototaktischen und positiv oder negativ geotaktischen. Diese Möglichkeit des Vorzeichenwechsels der Taxis unter Beibehaltung des Drehkommandos macht den Vorgang des Winkeltransponierens zweideutig: Jedem Lichtwinkel sind zwei Schwerewinkel zugeordnet und umgekehrt jedem Schwerewinkel zwei Lichtwinkel.

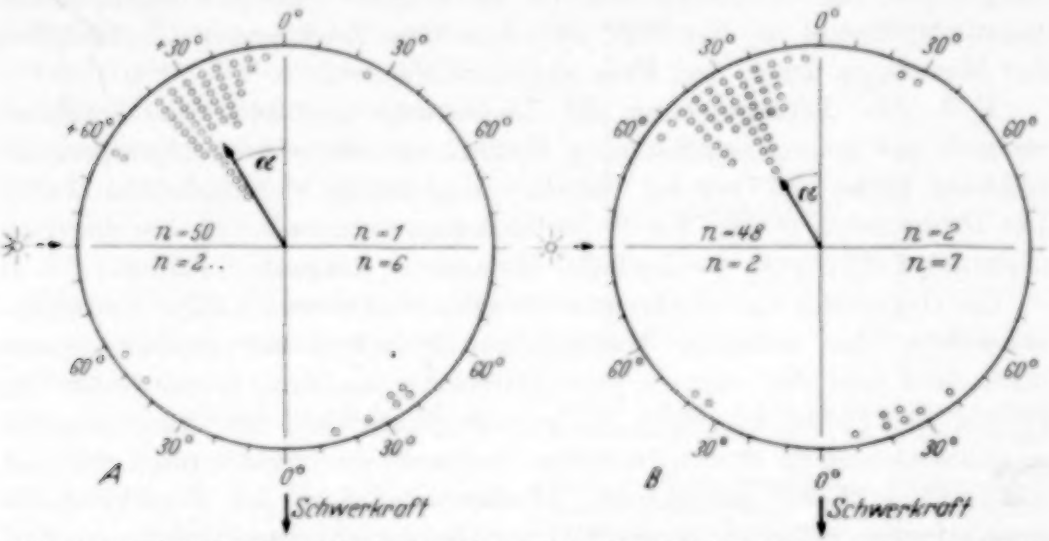


Abb. 3. Laufrichtungen relativ zu Licht- und Schwerkraftrichtung in den Simultanversuchen. α ist die mittlere Winkelabweichung von der Lotrechten, n ist die Anzahl der Meßwerte im Quadrant, *A* Lichtquelle mit voller Stärke, *B* mit $^1/_{20}$ der vollen Stärke

Die Winkelabweichungen bei der Schwereorientierung sind $24^0/38^0 = 0{,}63 \approx 2/3$mal kleiner als bei der Lichtorientierung (Abb. 1 und 2). Hieraus folgt, daß die geotaktische Drehtendenz, gegen welche das Drehkommando wirkt, um den reziproken Betrag, nämlich $1/0{,}63 = 1{,}58 \approx 3/2$mal stärker ist als die phototaktische Drehtendenz. Die Richtigkeit dieses Schlusses kann unabhängig vom obigen Versuchsergebnis durch direkten physiologischen Vergleich der beiden Drehtendenzen im Simultanversuch geprüft werden.

B, 1. In diesem Versuch stehen die beiden Reizrichtungen im rechten Winkel zueinander, daher sind die Köcherfliegen im Konflikt zwischen je zwei möglichen Grundrichtungen. Diese Konflikte werden durch Kompromißwahlen zwischen Grundrichtungen gelöst (Abb. 3a). Das Stärkeverhältnis zwischen den beiden Drehtendenzen bestimmt die tatsächlich gelaufene Kompromißrichtung.

Die meisten (85%) Tiere streben in diesem Versuch nach oben und zum Licht, wobei die Winkelabweichungen von der ersten Grundrichtung $29{,}7^0$ und von der letzten $60{,}3^0$ beträgt. Zwecks Berechnung

der statisch-optischen Verhältniszahl (= Stärkeverhältnis der Drehtendenzen; v. HOLST 1950) mit diesen Daten wird die Regel benutzt, daß Drehtendenzstärken mit dem Sinus der Winkelablenkung von einer Grundrichtung wachsen und fallen (v. HOLST 1950; SCHÖNE 1951, 1959; BRAEMER 1957; JANDER 1957). Demnach ist hier diese Verhältniszahl gleich sinus 60,3°/sinus 29,7° = 1,77, was zufriedenstellend mit dem oben unabhängig gewonnenen Wert von 1,58 übereinstimmt. Mit diesem Ergebnis ist der Schluß kaum zu umgehen, daß dieselben Dreherregungen, die Drehtendenzen der Grundorientierung, sowohl bei der Kompromißwahl im Konflikt zwischen Grundrichtungen als auch bei der Menotaxis durch den Reiz aktiviert werden.

B, 2. Die Verminderung der Lichtstärke um 98% im Simultanversuch hat keinen signifikanten Einfluß auf die mittlere Kompromißrichtung, sie ist 29,7° vor der Verminderung und 30,1° danach (Abb. 3a,b). Die Drehtendenzstärke der Phototaxis kann also wie bei den Ameisen (JANDER 1957) trotz wechselnder Reizstärke konstant bleiben.

Im Gegensatz zum Sukzessivversuch ist in diesen beiden Simultanversuchen eine stärkere Verknüpfung zwischen der positiv phototaktischen und der negativ geotaktischen Stimmung festzustellen: In 98 von 112 Fällen reagieren die positiv phototaktischen Tiere negativ geotaktisch und in 13 von 16 Fällen reagieren die negativ phototaktisch gestimmten positiv geotaktisch. Wahrscheinlich ist die Ursache dieser geotaktischen Stimmungsverschiebung die verschiedene Lichtintensität, in der sich die Köcherfliegen im Simultanversuch und in den Sukzessivversuchen während der Schwereorientierung befanden.

Die Richtungsstreuung in den beiden Simultanversuchen ist mit $\sigma = \pm 11{,}2°$ erheblich geringer als bei der reinen Licht- oder Schwereorientierung. Das ist zu erwarten, wenn der Vergleich der beiden Drehtendenzstärken bei der Kompromißwahl durch einfaches Addieren derselben geschieht. Da die Stärke der Drehtendenz proportional dem Kehrwert der Winkelstreuung ist, gilt die Gleichung $1/\pm 11{,}2° \approx 1/\pm 38° + 1/\pm 24° = 1/\pm 14{,}7°$. Dabei ist $\pm 11{,}2°$ die Streuung in den Simultanversuchen; $\pm 38°$ und $\pm 24°$ sind die Streuungen bei der reinen Licht- und Schwereorientierung und $\pm 14{,}7°$ ist die aus der Summierung der beiden Kehrwerte folgende theoretische Streuung im Simultanversuch. Dieser theoretische Wert ($\pm 14{,}7°$) und der tatsächlich erhaltene ($\pm 11{,}2°$) stimmen gut überein; ihr Unterschied ist nicht signifikant.

Wie in den obigen Abschnitten gezeigt wurde, ist es möglich, kausale Erklärungen, richtige Voraussagen und widerspruchslose Beschreibung des menotaktischen Orientierungsverhaltens zu geben, wenn man das in der Einleitung erwähnte Funktionsprinzip als gültig annimmt. Die speziellen Befunde an Ameisen (JANDER 1957) und Köcherfliegen, und

die weite Verbreitung der Fähigkeiten Winkel zu transponieren, die Orientierungsrichtung umzukehren und nach Grundrichtungen zu tendieren zusammen mit der Tatsache der phylogenetischen Verwandtschaft, machen es höchst wahrscheinlich, daß bei allen Insekten dasselbe Funktionsprinzip der Menotaxis verwirklicht ist.

Der hier nur an laufenden Köcherfliegen analysierte optische Orientierungsmechanismus wird offensichtlich auch bei der Orientierung der Flug- und Schwimmbewegung benutzt: Tiere, die in der Dunkelkammer gelegentlich aufflogen, flogen in derselben Richtung, in der sie vorher relativ zur Lichtrichtung liefen. Im Freiland wurden gelegentlich Köcherfliegen beobachtet, die, auf die Wasseroberfläche gefallen, in derselben Richtung schwammen[1], in der sie vorher flogen.

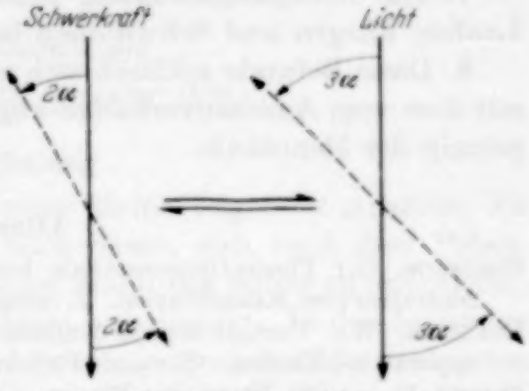


Abb. 4. Schema des zweideutigen proportionstreuen Transponierens der Köcherfliegen. Senkrechte Pfeile vertreten Licht- und Schwerkraftrichtung, Diagonalpfeile Laufrichtungen, Bogenpfeile die ablenkende Wirkung des Drehkommandos. Je einem Winkel 2α entsprechen zwei Winkel 3α und umgekehrt genauso. α Kann von $-30°$ bis $+30°$ variieren

Der Vergleich zwischen dem hier erstmals beschriebenen Winkeltransponieren der Köcherfliegen und dem anderer Insekten deckt folgende Unterschiede und Gemeinsamkeiten auf: Im Gegensatz zum bisher bekannt gewordenen *winkeltreuen* Transponieren der Bienen (v. Frisch 1946), Ameisen (Vowles 1954) und Käfer (Birukow 1954) transponieren die Köcherfliegen *proportionstreu:* Die Menotaxiswinkel der Schwereorientierung verhalten sich zu denen der Lichtorientierung wie zwei zu drei (Abb. 4). Im Gegensatz zu den Ameisen, die vierdeutig transponieren (Vowles 1954), transponieren die Köcherfliegen wie manchmal Käfer (Birukow 1954) zweideutig. Von der Honigbiene ist striktes eindeutiges Transponieren bekannt (v. Frisch 1946).

Zusammenfassung

1. Köcherfliegen (Imagines) können sich in bezug zur Licht- oder Schwerkraftrichtung menotaktisch orientieren.

2. Die Menotaxiswinkel bezogen auf die entsprechenden Grundrichtungen werden von der Licht- auf die Schwereorientierung transponiert und umgekehrt.

3. Transponiert wird zweideutig, d. h. je einem Lichtwinkel sind zwei Schwerewinkel zugeordnet und umgekehrt genauso.

[1] Beim Schwimmen legen diese Köcherfliegen Flügel, Vorder- und Hinterbeine dem Körper an. Die Mittelbeine rudern mit gleichzeitigen Schlägen.

4. Das Transponieren ist proportionstreu, Geotaxiswinkel und Phototaxiswinkel verhalten sich wie zwei zu drei.

5. Im 90°-Konflikt zwischen gleichzeitig aktivierter Photo- und Geotaxis wird eine helligkeitsunabhängige Kompromißrichtung eingeschlagen, die 60° von der erstrebten Phototaxisrichtung und 30° von der erstrebten Geotaxisrichtung abweicht.

6. Der Vergleich der Drehtendenzen in der Kompromißwahl geschieht durch Addition derselben.

7. Die Bewegungsrichtung in bezug zur Lichtrichtung kann beim Laufen, Fliegen und Schwimmen beibehalten werden.

8. Diese Befunde erklären sich am einfachsten und widerspruchsfrei mit dem vom Ameisenverhalten abgeleiteten (JANDER 1957) Funktionsprinzip der Menotaxis.

Literatur

BIRUKOW, G.: Photo-Geomenotaxis bei Geotrupes silvaticus Panz. und ihre zentralnervöse Koordination. Z. vergl. Physiol. **36**, 176 (1954).

BRAEMER, W.: Verhaltensphysiologische Untersuchungen am optischen Lageapparat bei Fischen. Z. vergl. Physiol. **39**, 374 (1957).

FRISCH, K. v.: Die Tänze der Bienen. Öst. zool. Z. **1**, 1 (1946).

HOLST, E. v., u. H. MITTELSTAEDT: Das Reafferenzprinzip. Naturwissenschaften **37**, 464 (1950).

JACOBS-JESSEN, U. F.: Zur Orientierung der Hummeln und einiger anderer Hymenopteren. Z. vergl. Physiol. **41**, 597 (1959).

JANDER, R.: Die optische Richtungsorientierung der Roten Waldameise Formica rufa L. Z. vergl. Physiol. **40** (1957).

SCHÖNE, H.: Die Lichtorientierung der Larven von Acilius sulcatus L. und Dytiscus marginalis L. Z. vergl. Physiol. **33**, 63 (1951).

SCHÖNE, H.: Die Lageorientierung mit Statolithenorganen und Augen. Ergebn. Biol. **21**, 161 (1959).

VOWLES, D. M.: The orientation of ants I. The substitution of stimuli. J. exp. Biol. **31**, 341 (1954).

Dr. RUDOLF JANDER, Zoologisches Institut der Universität Freiburg i. Br., Katharinenstr. 20

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 43, 687—692 (1960)

Aus dem Zoologischen Institut der Universität München

EIN DIREKTER BEWEIS FÜR DIE FÄHIGKEIT EINZELNER SEHZELLEN DES INSEKTENAUGES, DIE SCHWINGUNGSRICHTUNG POLARISIERTEN LICHTES ZU ANALYSIEREN

Von

DIETRICH BURKHARDT und LOTTE WENDLER*

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. September 1960)

A. Einleitung

v. FRISCH konnte 1949 und in einer Reihe folgender Arbeiten die erstaunliche Fähigkeit der Bienen nachweisen, sich nach dem Polarisationsmuster des blauen Himmels zum Stand der Sonne zu orientieren, auch wenn die Sonne selbst für sie nicht sichtbar ist. In den folgenden Jahren wurde die Wahrnehmung der Schwingungsrichtung polarisierten Lichtes für eine Anzahl weiterer Arthropoden nachgewiesen; trotz verschiedentlich erhobener Einwände kann heute als gesichert gelten, daß diese Leistung unter Arthropoden weit verbreitet ist. Zusammenfassungen hierüber geben STOCKHAMMER (1959) und v. FRISCH, LINDAUER und DAUMER (1960).

AUTRUM und STUMPF (1950) untersuchten die Belichtungspotentiale der Biene und Schmeißfliege bei polarisiertem Licht. Sie konnten zeigen, daß die intensitätsabhängige Amplitude des Retinogramms bei großen und kleinen Reizflächen unabhängig von der Schwingungsrichtung polarisierten Lichtes ist. Dieser Befund schließt aus, daß dem Gesamtauge oder den einzelnen Ommatidien ein Analysator vorgelagert ist. Wäre dies der Fall, so müßte sich die auf die Sehzellen einfallende Lichtintensität und damit die Höhe des Retinogramms gesetzmäßig mit der Schwingungsrichtung verändern. Linear polarisiertes Licht löste jedoch höhere Retinogramme aus als intensitätsgleiches unpolarisiertes Licht. Dieser Befund kann durch folgende von den Autoren aufgestellte Hypothese erklärt werden: Das Ommatidium ist nicht, wie früher angenommen, eine physiologische Einheit. Die einzelnen Sehzellen zeigen für polarisiertes Licht einer bestimmten Schwingungsrichtung eine höhere Empfindlichkeit als für die anderen Schwingungsrichtungen. In unpolarisiertem Licht ist die Intensität auf alle Schwingungsrichtungen gleichmäßig verteilt; unpolarisiertes

* Die Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Licht reizt also alle Sehzellen mit einer mittleren Intensität. Intensitätsgleiches polarisiertes Licht, wo die gesamte Energie auf eine Schwingungsrichtung fällt, löst in den günstig orientierten Sehzellen einen entsprechend höheren Effekt aus. Die Amplitude des Retinogramms wird ansteigen, da ein Teil der Sehzellen besonders hohe Beiträge zum Summenpotential liefert.

Die Ergebnisse von Ultrastruktur-Untersuchungen an den Sehzellen mit dem Polarisations- und Elektronenmikroskop stehen in Einklang mit dieser Hypothese (STOCKHAMMER 1959): Der dioptrische Apparat des Auges ist optisch isotrop; die Rhabdomere jedoch erweisen sich unter dem Polarisationsmikroskop als doppelbrechend und zeigen im elektronenmikroskopischen Bild eine radiäre Feinstruktur (DANNEEL und ZEUTZSCHEL 1957, GOLDSMITH und PHILPOTT 1957 und FERNÁNDEZ-MORÁN 1958).

Mit Hilfe von intrazellulären Mikroelektroden konnten neuerdings die Belichtungspotentiale einzelner Sehzellen von *Calliphora* untersucht werden (BURKHARDT und AUTRUM 1960). Diese Methode sollte den direkten Beweis ermöglichen, daß die einzelne Sehzelle auf polarisiertes Licht verschiedener Schwingungsrichtung mit unterschiedlichen Erregungszuständen antwortet.

B. Methoden

Als Versuchstiere wurden ♂♂ der Wildform von *Calliphora erythrocephala* MEIG. aus der Zucht des Zoologischen Institutes verwandt. Einzelheiten der Elektroden- und Verstärker-Anordnung sind bereits bei BURKHARDT und AUTRUM (1960) beschrieben worden. Als Lichtquelle dient eine 15 Watt-Niedervoltlampe, deren Wendel mit dem Okular eines Präpariermikroskops auf eine feinkörnige Mattscheibe leicht unscharf abgebildet wird. Der Durchmesser des daher gleichmäßig ausgeleuchteten Lichtflecks beträgt 4 mm, der Abstand der Mattscheibe vom Auge nur 2 mm, damit eine möglichst große Zahl von Ommen gereizt und eine größere Anzahl von Sehzellen jedes Präparates untersucht werden kann. Zwischen Auge und Mattscheibe befindet sich die drehbare Polarisationsfolie; zur Veränderung der Lichtintensität dienen Neutralgraufilter mit 10 und 33% Durchlässigkeit, für den Feinabgleich gewöhnliche Glasplatten, deren Reflexion und Absorption im sichtbaren Spektrum gleichmäßig 8—10% beträgt. Zur Untersuchung der Aktionspotentiale bei monochromatischem Licht können zusätzlich 2 Interferenz-Farbfilter von 8 mμ Halbwertsbreite und von maximaler Durchlässigkeit bei 478 mμ bzw. 603 mμ eingeschaltet werden. Die maximale Beleuchtungsstärke des Auges ohne Neutralgraufilter und Farbfilter betrug etwa 30000 Lux. Kontrollmessungen mit der Photozelle sicherten, daß der Anteil polarisierten Lichtes im Strahlengang (ohne Vorschaltung des Polarisators) zwischen 5% und höchstens 10% lag. Eine Drehung des Polarisators kann daher die für das Auge wirksame Lichtintensität allenfalls um diesen Betrag verändern. Zur Bestimmung der Intensitätsabhängigkeit wurde jeweils von großen zu kleinen Intensitäten und zurück gemessen, ausgewertet wurden die Mittelwerte. Ebenso wurde bei einer Drehung des Polarisators die Stellung von der Ausgangslage in Schritten von je 22,5° bis auf 180° und wieder zurück verändert, möglicherweise auftretende Adaptationswirkungen werden hierdurch ausgeschlossen.

C. Ergebnisse

In einer vorangegangenen Arbeit konnte gezeigt werden, daß von den einzelnen Sehzellen während der Belichtung monophasische Aktionspotentiale abgeleitet werden können, die die Membran depolarisieren. Öffnet sich das Ommatidium direkt zur Lichtquelle hin, so erreichen diese Belichtungspotentiale Amplituden von 20—30 mV. Um auszuschließen, daß durch schrägen Lichteinfall eine Drehung der Polarisationsebene an optischen Grenzflächen in der Cornea oder im Kristallkegel Intensitätsänderungen verursacht, wurden nur solche Sehzellen

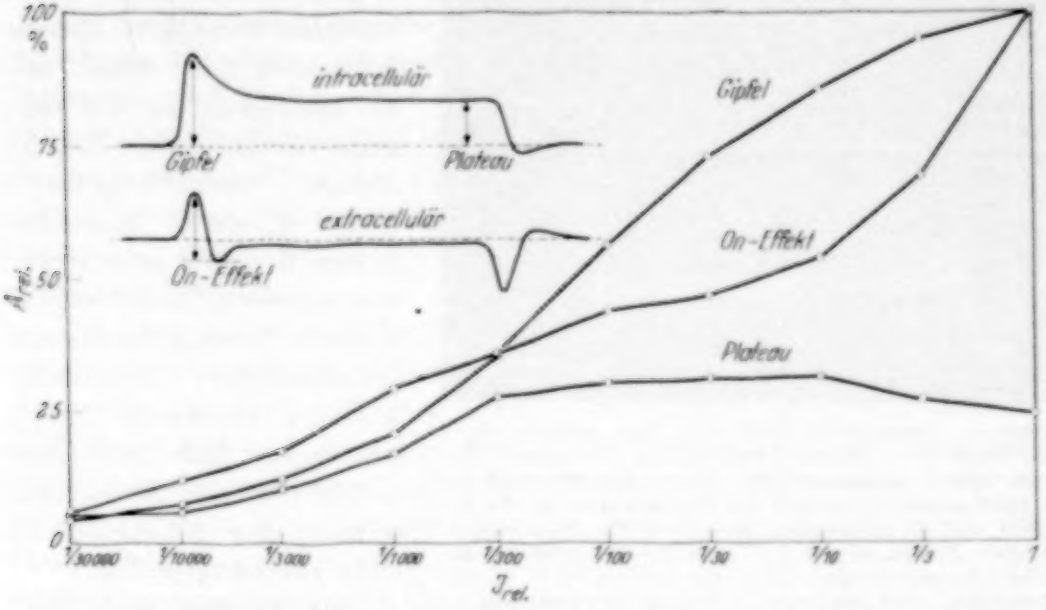


Abb. 1. Intensitätsabhängigkeit der Belichtungspotentiale für ein typisches Einzelpräparat, unbuntes Licht. Abszisse: Relative Lichtintensität im logarithmischen Maßstab, der Intensität 1 entspricht eine Beleuchtungsstärke von etwa 30000 Lux am Ort des Präparates. Ordinate: Relative Amplituden, für die intrazelluläre Ableitung bezogen auf die Amplitude des Gipfels bei J = 1, für extrazelluläre Ableitung auf die des Ein-Effektes bei J = 1. Das Einschaltbild zeigt schematisch die Auswertung der Registrierungen. Die absoluten Werte für dieses Präparat waren: Ruhepotential —50 mV, Gipfel bei J = 1: 40 mV, Ein-Effekt bei J = 1: 6 mV

weiter untersucht, die sehr hohe Belichtungspotentiale gaben. Auf diese Weise scheint die Bedingung senkrechten Lichteinfalls gesichert. Abb. 1 zeigt die Intensitätsabhängigkeit der intrazellulär gemessenen Belichtungspotentiale und die des gleichzeitig mit extrazellulären Elektroden registrierten Retinogramms. Der Gipfel des Belichtungspotentials kurz nach Beginn der Belichtung nimmt über einen weiten Bereich ungefähr proportional dem Logarithmus der Lichtintensität zu. Das sich bei anhaltender Belichtung einstellende Plateau des Aktionspotentials erreicht hingegen schon bei relativ schwachen Intensitäten einen Sättigungswert. Unterhalb dieser Intensität kann eine Änderung der Lichtintensität um 10% an der Höhe des Gipfels und des Plateaus

noch deutlich abgelesen werden; in diesem Intensitätsbereich wurden die Versuche mit polarisiertem Licht durchgeführt. Die Kurve für das extrazelluläre Retinogramm zeigt bei den hohen Intensitäten noch keinerlei Anzeichen einer Sättigung, sondern sogar zunehmend höhere Steilheit. In der vorangegangenen Arbeit wurde bereits kurz diskutiert, daß dieser Kurventeil wahrscheinlich unter der Mitwirkung eines Flächeneffektes zustande kommt: Die am Rande des belichteten Retinabezirkes liegenden Sehzellen bekommen Streulicht, dessen Intensität noch unterhalb der Sättigung für die einzelne Zelle liegt. Zunehmende Lichtintensitäten bedeuten daher eine Zunahme der Zahl belichteter Ommatidien. Da die Amplitude des Retinogramms mit zunehmender Reizfläche ansteigt (AUTRUM 1950), überlagert sich bei einer extrazellulären Massenableitung der Flächeneffekt dem Intensitätseffekt.

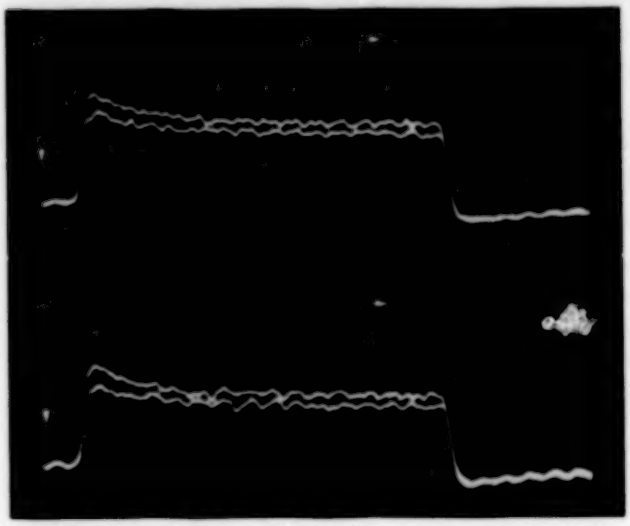


Abb. 2. Registrierbeispiel für den Effekt einer Drehung der Polarisationsebene auf die intrazellulären Belichtungspotentiale. Obere Registrierung P: Übereinander registriert das Belichtungspotential bei zwei um 90° gedrehten Stellungen des Polarisators. Untere Registrierung J: Übereinander registriert die Belichtungspotentiale bei voller und um 46 % herabgesetzter Lichtintensität, Stellung des Polarisators bei beiden Intensitäten gleich, Reizlicht 480 mμ. Eichmarken für beide Aufnahmen: waagrecht 300 msec, senkrecht —25 mV. Ruhepotential des Präparates —60 mV, Nullinie auf der Abbildung nicht mehr sichtbar

Der Einfluß einer Drehung des Polarisationsfilters wurde bei unbuntem, blauem und rotem Reizlicht bestimmt. Bei einer großen Zahl untersuchter Sehzellen konnte bei Drehung der Schwingungsrichtung eine Veränderung des intrazellulären Belichtungspotentials beobachtet werden: In zwei zueinander senkrechten Stellungen haben die Belichtungspotentiale ein Maximum bzw. ein Minimum. Der Effekt ist bei unbuntem und bei blauem Licht etwa gleich stark ausgebildet, bei rotem Licht fehlt er. Aus den Kurven für die Intensitätsabhängigkeit kann entnommen werden, daß der Effekt einer Drehung der Polarisationsebene einer Intensitätsänderung um den Faktor zwei entspricht. Dies läßt sich auch direkt zeigen: Um durch eine Veränderung der Lichtintensität gleiche Veränderungen wie durch die 90°-Drehung des Polarisators zu bekommen, muß die Intensität durchschnittlich um 50% herabgesetzt werden; Abb. 2 zeigt ein derartiges Experiment. Der

beobachtete Effekt ist somit gegenüber dem photometrisch bestimmten Anteil von maximal 10% polarisiertem Störlicht gut gesichert. Das Fehlen jeder meßbaren Änderung im roten Licht beweist außerdem, daß alle physikalischen Störungen so klein sind, daß sie keinerlei physiologische Wirkungen haben. Die Amplitude des extrazellulären Retinogramms zeigt übereinstimmend mit den Befunden von AUTRUM und STUMPF (1950) keine Änderung bei einer Drehung der Polarisationsebene. Die bei den intrazellulären Ableitungen als äquivalent gefundene Schwächung der Intensität um 50% bewirkt hingegen sehr deutliche Amplitudenänderungen des Retinogramms.

Die bisher beschriebenen Versuche wurden alle bei periodischer Belichtung des Auges ausgeführt (ein Lichtreiz von 300 msec Dauer je Sekunde). Die Wirkung der Drehung des Polarisators auf die einzelne Sehzelle kann auch während anhaltender Belichtung beobachtet werden: Je nach der Stellung des Polarisators ist die Membran stärker oder schwächer depolarisiert. Wird während der Belichtung die Schwingungsebene gedreht, so verändert sich das Membranpotential um den entsprechenden Betrag.

Die Lage der Schwingungsrichtung maximaler Wirksamkeit wechselt von einer untersuchten Zelle zur nächsten. Da bisher eine histologische Kontrolle der Elektrodenlage noch nicht möglich war, können auch noch keine Aussagen über das Muster der Vorzugsrichtungen innerhalb eines Ommatidiums oder für das Gesamtauge gemacht werden. Da nicht in allen Fällen eine Veränderung des Belichtungspotentials mit der Drehung des polarisierten Lichtes beobachtet werden konnte, ist vielleicht möglich, daß nur ein Teil der Sehzellen die Fähigkeit zur Analyse des polarisierten Lichtes besitzt.

Die Untersuchungen an einzelnen Sehzellen des Komplexauges von *Calliphora erythrocephala* mit intrazellulären Mikroelektroden zeigen also: Die Membran der Sehzelle wird durch ein monophasisches Belichtungspotential depolarisiert. Die Amplitude des Belichtungspotentials der einzelnen Sehzelle hängt von der Lichtintensität und der Schwingungsrichtung linear polarisierten Lichtes ab. Eine Drehung der Schwingungsebene von maximal zu minimal wirksamer Lage verändert die Belichtungspotentiale der einzelnen Sehzelle quantitativ so wie eine Verminderung der Lichtintensität um die Hälfte; dieser Effekt des polarisierten Lichtes ist bei unbuntem und blauem Reizlicht nachweisbar, bei rotem Licht fehlt er. Da der vor den Sehzellen liegende dioptrische Apparat optisch isotrop ist, beweisen die Versuche die Hypothese von AUTRUM und STUMPF, daß die einzelne Sehzelle auf polarisiertes Licht verschiedener Schwingungsrichtung mit unterschiedlichen Erregungszuständen anspricht.

Summary

Action potentials from single visual cells of the compound eye are lead off during illumination of the retina of *Calliphora erythrocephala* by means of intracellular capillary microelectrodes. The size of the monophasic and depolarizing action-potentials depends on light-intensity and on plane of polarized light. Turning the plane of polarization from maximum to minimum efficacy equals a decrease of intensity of about 50%. As the dioptric apparatus is optically isotropic, the experiments described here prove the hypothesis of Autrum and Stumpf, namely that the single visual cell responds to different planes of polarization with different states of excitation.

Nachtrag bei der Korrektur. Während der Drucklegung dieser Arbeit wurde uns die Veröffentlichung von Naka und Kuwabara [Nature (Lond.) **184**, 455—456 (1959)] bekannt, in welcher eine Abhängigkeit der Amplitude von Flimmerpotentialen einzelner Sehzellen von *Lucilia* von der Schwingungsrichtung polarisierten Lichtes berichtet wird. Der Effekt liegt in der gleichen Größe wie die von uns bei Einzelreizen beobachteten Wirkungen.

Literatur

Autrum, H.: Die Belichtungspotentiale und das Sehen der Insekten (Untersuchungen an *Calliphora* und *Dixippus*). Z. vergl. Physiol. **32**, 176—227 (1950).

—, u. Hildegard Stumpf: Das Bienenauge als Analysator für polarisiertes Licht. Z. Naturforsch. **5** b, 116—122 (1950).

Burkhardt, D., u. H. Autrum: Die Belichtungspotentiale einzelner Sehzellen von *Calliphora erythrocephala* Meig. Z. Naturforsch. **15** b, 612—616 (1960).

Danneel, R., u. B. Zeutzschel: Über den Feinbau der Retinula bei *Drosophila melanogaster*. Z. Naturforsch. **12** b, 580—583 (1957).

Fernández-Morán, H.: Fine structure of the light receptors in the compound eyes of insects. Exp. Cell Res. Suppl. **5**, 586—644 (1958).

Frisch, K. v.: Die Polarisation des Himmelslichtes als orientierender Faktor bei den Tänzen der Bienen. Experientia (Basel) **5**, 142—148 (1949).

— M. Lindauer u. K. Daumer: Über die Wahrnehmung polarisierten Lichtes durch das Bienenauge. Experientia (Basel) **16**, 289—301 (1960).

Goldsmith, T. H., and D. E. Philpott: The microstructure of the compound eyes of insects. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 429—440 (1957).

Stockhammer, K.: Die Orientierung nach der Schwingungsrichtung linear polarisierten Lichtes und ihre sinnesphysiologischen Grundlagen. Ergebn. Biol. **21**, 23—56 (1959).

Doz. Dr. Dietrich Burkhardt, Zoologisches Institut der Universität, München 2, Luisenstr. 14.

Autorenverzeichnis des 43. Bandes

Aufsess, A. v., Geruchliche Nahorientierung der Biene bei entomophilen und ornithophilen Blüten. S. 469

Botsch, D., Dressur- und Transpositionsversuche bei Karauschen *(Carassius teleostei)* nach partieller Exstirpation des Tectum opticum. S. 173

Burkhardt, D., und L. Wendler, Ein direkter Beweis für die Fähigkeit einzelner Sehzellen des Insektenauges, die Schwingungsrichtung polarisierten Lichtes zu analysieren. S. 687

Esch, H., Über die Körpertemperaturen und den Wärmehaushalt von *Apis mellifica*. S. 305

Haggag, G. s. Khalil, F. S. 269, 278

Hama, T. s. Mori, Y., und J. Matsumoto. S. 531

Hasler, A. D. s. Schneider, H. S. 499

Hoffmann, K., Versuche zur Analyse der Tagesperiodik. I. Der Einfluß der Lichtintensität. S. 544

Huber, F., Experimentelle Untersuchungen zur nervösen Atmungsregulation der Orthopteren *(Saltatoria: Gryllidae)*. S. 359

Jahn, T., Optische Gleichgewichtsregelung und zentrale Kompensation bei Amphibien, insbesondere bei der Erdkröte (*Bufo bufo* L.). S. 119

Jander, R., Menotaxis und Winkeltransponieren bei Köcherfliegen (Trichoptera). S. 680

Jankowsky, H.-D., Über die hormonale Beeinflussung der Temperaturadaptation beim Grasfrosch (*Rana temporaria* L.). S. 392

Kanwisher, J. s. Wieser, W. S. 29

Khalil, F., and G. Haggag, Xanthine oxidase and arginase in the liver and kidney of reptiles. S. 269

— — Ureotelism and uricotelism in tortoises in relation to arginase and xanthine oxidase activities. S. 278

Kummer, H., Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung von Fortpflanzungs-Faktoren auf die Lebensdauer von *Drosophila melanogaster*-Weibchen. S. 642

Kulzer, E., Physiologische und morphologische Untersuchungen über die Erzeugung der Orientierungslaute von Flughunden der Gattung *Rousettus*. S. 231

Kunte, H., Vergleichende Untersuchungen zum Tryptophanstoffwechsel in Leberzellfraktionen bei Wirbeltieren. S. 341

Matsumoto, J. s. Mori, Y. und T. Hama. S. 531

Meske, Ch., Schallreaktionen von *Lithobius forficatus* L. (Chilopoden). S. 526

Mori, Y., J. Matsumoto and T. Hama, On the properties of cyprino-pourpre A 2, a pterin isolated from the skin of cyprinidae, and its relation to ichthyopterin or 7-hydroxybiopterin. S. 531

Nachtigall, W., Über Kinematik, Dynamik und Energetik des Schwimmens einheimischer Dytisciden. Zugleich ein Beitrag zur Anwendung von Kurzzeitphotographie und Hochfrequenzkinematographie auf biologische Probleme. S. 48

Neuhaus, W., und R. Wohlgemuth, Über das Fächeln der Bienen und dessen Verhältnis zum Fliegen. S. 615

Nickel, E., Untersuchungen über den Farbensinn junger Alligatoren. S. 37

Pavlović, V., Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten bei einigen Arten von Reptilien Norddalmatiens. S. 336

Pfeiffer, W., Über die Schreckreaktion bei Fischen und die Herkunft des Schreckstoffes. S. 578

Reis, A., geb. Siebel, Retinomotorische Vorgänge im Larvenauge des Rückenschwimmers *Notonecta glauca*. S. 282

Renner, M., Das Duftorgan der Honigbiene und die physiologische Bedeutung ihres Lockstoffes. S. 411

Schneider, H., and A. D. Hasler, Laute und Lauterzeugung beim Süßwassertrommler *Aplodinotus grunniens* Rafinesque (Sciaenidae, Pisces). S. 499

Stieve, H., Die spektrale Empfindlichkeitskurve des Auges von *Eupagurus bernhardus* L. S. 518

Stürckow, B., Elektrophysiologische Untersuchungen am Chemorezeptor von *Calliphora erythrocephala* Meigen. S. 141

Waterman, T. H., Interaction of polarized light and turbidity in the orientation of *Daphnia* and *Mysidium*. S. 149

Weel, van P. B., On the secretion of digestive enzymes by the marine crab, *Thalamita crenata*. S. 567

Wendler, L. s. Burkhardt, D. S. 687

Wesemeier, H., Untersuchungen über die Stoffwechselreduktion. Ein intra- und interspezifischer Vergleich an 17 Molluskenarten. S. 1

Wieser, W., and J. Kanwisher, Growth and metabolism in a marine nematode. *Enoplus communis* Bastian. S. 29

Wohlgemuth, R. s. Neuhaus, W. S. 615